



TESIS DOCTORAL

MODALIDAD DE COMPENDIO DE ARTÍCULOS

**ESTUDIO PATOLÓGICO DE LOS SOLÉNIDOS
COMERCIALES EN GALICIA**

Maite Ruiz Pérez

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA.

CIBUS-FACULTAD DE BIOLOGÍA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2017





XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DO MAR



Las doctoras Carmen López Gómez, investigadora del Centro de Investigacións Mariñas de Corón, dependiente de la Consellería do Mar (Xunta de Galicia) y Susana Darriba Couñago, jefa de la unidad de patología del Instituto Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño de Galicia, dependiente de la Consellería do Mar (Xunta de Galicia)

Certifican:

Que la presente Tesis Doctoral titulada “Estudio patológico de los solénidos comerciales en Galicia”, que presenta Dña. Maite Ruiz Pérez para optar al grado de Doctora por la Universidad de Santiago de Compostela, ha sido realizada en el Centro de Investigacións Mariñas bajo su dirección y que es idónea para su presentación, de acuerdo con el artículo 41 del Reglamento de Estudios de Doctorado, por la modalidad de compendio de ARTÍCULOS, en los que la doctoranda realizó una importante contribución tanto en las etapas de investigación como de redacción de dichos trabajos. Hallándose concluida, autorizan su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Los coautores de dichos artículos conocen la inclusión de los mismos en esta tesis doctoral y ninguno de los artículos reunidos en esta tesis será presentado por estos autores en otra tesis doctoral, lo que firmamos bajo nuestra responsabilidad.

Y para que así conste, firman la presente en Vilanova de Arousa, a 18 de mayo de 2017.

Fdo. Dra. Carmen López Gómez
Directora de la tesis

Fdo. Dra. Susana Darriba Couñago
Codirectora de la tesis





D. Jesús Ángel López Romalde, Catedrático de la Universidad de Santiago de Compostela,

Informa:

Que la presente Memoria titulada “Estudio patológico de los solénidos comerciales en Galicia”, que presenta Dña. Maite Ruiz Pérez para optar al grado de Doctora por la Universidad de Santiago de Compostela, ha sido realizada bajo su tutela y que, hallándose concluida, autoriza su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, firma la presente en Santiago de Compostela, a 18 de mayo de 2017.

Fdo.: Jesús Ángel López Romalde

Tutor de la tesis





XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DO MAR



Este trabajo ha sido desarrollado en el Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), perteneciente a la Consellería do Mar (Xunta de Galicia), dentro del departamento de Patología.

Maite Ruiz Pérez disfrutó de una beca para la realización de la tesis de doctoral en temas de investigación marina, concedida por la Consellería do Mar (Xunta de Galicia), entre mayo de 2008 y mayo de 2010, así como de un contrato en prácticas como titulada superior por la Consellería do Mar (Xunta de Galicia) entre mayo de 2010 y mayo de 2012. Esta tesis se ha desarrollado dentro del programa de doctorado “Avances en Biología Microbiana y Parasitaria” de la Universidad de Santiago de Compostela.

Como resultado del trabajo de investigación llevado a cabo en esta tesis doctoral se han publicado los siguientes artículos:

- Histological survey of symbionts and other conditions in razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Pharidae) of the coast of Galicia (NW Spain).
Darriba, S., Iglesias, D., **Ruiz, M.**, Rodríguez, R., López, C. 2010. Journal of Invertebrate Pathology. 104(1):23-30.
Índice de impacto: 1,153; Q1 en *Agricultural and Biological Sciences*.
- Viral basophilic inclusions in the digestive gland of razor clams *Ensis arcuatus* (Pharidae) in Galicia (NW Spain).
Ruiz, M., Darriba, S., Rodríguez, R., Iglesias, D., Lee, R-S, López, C. 2011. Diseases of Aquatic Organisms. 94(3):239-241.
Índice de impacto: 0,964; Q2 en *Aquatic Science*.
- Epidemiological survey of digenean trematodes affecting razor clams, *Ensis arcuatus*, from Galicia (NW Spain).

Ruiz, M., Iglesias, D., Darriba, S., Rodríguez, R., López, C. 2012. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 32(1):3-13.

Índice de impacto: 0,262; Q4 en *Aquatic Science*.

- Histological survey of symbionts and other conditions of pod razor clam *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in Galicia (NW Spain).

Ruiz, M., Darriba, S., Rodríguez, R., López, C. 2013. Journal of Invertebrate Pathology. 112(1):74-82.

Índice de impacto: 1,153; Q1 en *Agricultural and Biological Sciences*.

- *Marteilia* sp. and other parasites and pathological conditions in *Solen marginatus* populations along the Galician coast (NW Spain).

Ruiz, M., Darriba, S., Rodríguez, R., López, C. 2015. Diseases of Aquatic Organisms. 112(3):177-184.

Índice de impacto: 0,964; Q2 en *Aquatic Science*.

- A novel paramyxean parasite, *Marteilia octospora* n. sp. (Cercozoa) infecting the Grooved Razor Shell clam *Solen marginatus* from Galicia (NW Spain).

Ruiz, M., López, C., Lee, R-S, Rodríguez, R., Darriba, S. 2016. Journal of Invertebrate Pathology. 135 (Marzo 2016):34-42.

Índice de impacto: 1,153; Q1 en *Agricultural and Biological Sciences*.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer de manera muy especial a Carmen López Gómez y Susana Darriba Couñago, codirectoras de esta tesis, por su paciencia y total dedicación a lo largo de todos estos años. Su apoyo y confianza, así como todos los conocimientos que me han transmitido me han servido, no sólo en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigadora. Para mi sois todo un ejemplo y siempre os estaré agradecida.

A Rosana Rodríguez, coautora de varios artículos de esta tesis, por su colaboración y por compartir conmigo parte de sus muestras histológicas.

A Ren-Shiang Lee por acogerme en el laboratorio del Consello Regulador da Denominación de Orixe Protexida do Mexillón de Galicia y por abrirme las puertas a un mundo tan apasionante como el de la biología molecular. Gracias por tu paciencia y por tus sabios consejos.

A David Iglesias por su asesoramiento científico en algunos de los artículos presentados en esta tesis y por estar siempre disponible para cualquier duda o consulta con la mejor de las sonrisas.

Por supuesto agradecer a las técnicas Ana González, Maribel Meléndez, Elena Penas, Paula Rodríguez Tamargo y Miriam de Castro, por su inestimable ayuda en el procesado de las muestras histológicas y por su cariño, sin vuestro trabajo esta tesis no habría salido adelante.

Así como al resto de compañeros del Departamento de Patología, Susi Carballal, Jaime Montes, Antonio Villalba, Asun, Bea y Sonia, han sido tantas las personas que han pasado por el Departamento a lo largo de estos años que espero no olvidarme de nadie.

A mis compañeros de tesis Sergio Fernández, Seila Díaz, Curro, Laura Martín, Andrea Ramilo, Nuria y Eva. Os deseo lo mejor.

Quisiera agradecer también a Josefina Méndez de la Universidad de A Coruña por tutelarme durante el periodo de docencia, así como a Juan Tajés por su ayuda con el manejo del citómetro de flujo y por su asesoramiento en temas de biología molecular. Así como a Cristina Castro, de la Universidad de Vigo, por su colaboración mediante la aportación de muestras histológicas de navaja.

A Jesús Romalde de la Universidad de Santiago de Compostela por aceptarme en el programa de doctorado por tutelarme en la etapa de investigación y elaboración de la tesis.

A las asistencias técnicas de las cofradías por proporcionarme el material biológico para la realización de esta tesis.

Al área de Acuicultura y en especial a Alejandro Guerra por acogerme en el departamento durante mi primer estancia en el CIMA como becaria de acuicultura.

Y en general a todo el equipo del CIMA, por sus ánimos y por todos los buenos momentos compartidos.

A mis amigos de siempre Cris, Isa, Manu, David, Nuria C., Nuria G., Alba, Loli, Laura y Paula por todos los buenos momentos y por sacarme siempre una sonrisa.

Por último, quiero dedicar esta tesis a mis padres y a mi hermano Fer por todos los esfuerzos que han hecho para que pudiera estudiar y dedicarme a lo que me gusta y por creer siempre en mí.

Resumen

Los solénidos (Superfamilia Solenoidea) son moluscos bivalvos infaunales que viven en fondos blandos y se caracterizan por tener una concha alargada y un pie grande adaptado para la excavación. En Galicia son un recurso importante a nivel socio-económico y su captura está sujeta a planes específicos de explotación. Las especies más importantes, a nivel comercial, son la navaja, *Ensis magnus* (= *E. arcuatus*) (Schumacher, 1817), el longueirón, *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) y el longueirón vello, *Solen marginatus* (Pulteney, 1799). La sostenibilidad de la explotación comercial requiere el desarrollo de estrategias de gestión y control basadas en el conocimiento científico. Con este objetivo, a lo largo de los años 90 se iniciaron estudios sobre las artes de pesca, la reproducción y el cultivo de estas especies. Esta tesis se centra en el estado patológico de este recurso.

Para cada una de las tres especies principales se realizó un estudio histopatológico general que permitió conocer los simbioses y alteraciones patológicas que se pueden encontrar en las zonas de producción gallegas. Para profundizar en la caracterización e identificación de algunos de los agentes patógenos detectados, fue necesario aplicar técnicas de diagnóstico.

En el caso de la navaja, *E. magnus*, se concluyó que esta especie, en los bancos analizados, no presentaba parásitos de notificación obligatoria y que ninguno de los agentes patógenos y alteraciones detectados suponía una amenaza para la continuidad de las poblaciones. No obstante, se hizo un estudio más amplio a nivel espacial y temporal, centrado en las infecciones por larvas de trematodos digeneos. Este trabajo permitió avanzar en su identificación y verificar que, aunque a nivel individual sus efectos son importantes, no hay riesgo a nivel poblacional por su baja prevalencia.

Por otro lado, se describieron, por primera vez, partículas virales infectando a una especie de solénido.

En el caso del longueirón, *E. siliqua*, se llevó a cabo un estudio histopatológico completo en dos bancos y se concluyó, al igual que en *E. magnus*, que estaba libre de parásitos de notificación obligatoria y que la mayoría de los agentes patógenos y alteraciones patológicas observadas no suponían una amenaza para las poblaciones de esta especie. También se llevó

a cabo un análisis ultraestructural de dos tipos de inclusiones basófilas halladas en la glándula digestiva. Una de las cuales correspondía a un virus, similar al descrito en *E. magnus*, y en el otro tipo se observaron organismos procariotas. Es destacable la detección de un tipo de neoplasia gonadal (germinoma), ya descrita previamente en *E. magnus* en Galicia y que, aunque mantiene niveles de prevalencia e intensidad bajos merece ser vigilado.

El estudio patológico del longueirón vello, *S. marginatus*, aunque recoge los simbios y alteraciones que se encuentran en esta especie, se centra en un cartografiado a lo largo de toda la costa gallega para conocer la distribución del protozoo del género *Marteilia*. Especies del mismo género han causado efectos devastadores en bancos de bivalvos en distintas partes del mundo. Se hizo un seguimiento de 17 bancos marisqueros, de los que únicamente se detectó el parásito en seis, cinco de ellos localizados en la Ría de Arousa. Finalmente, el último de los trabajos que componen esta tesis, presenta la caracterización e identificación de esta nueva especie de *Marteilia*, siendo de entre todas las especies conocidas la que presenta el mayor número de esporas por esporangio de todas las conocidas, por lo que se ha nombrado *Marteilia octospora*. Para su caracterización ha sido necesario profundizar en la ultraestructura del parásito. Por otro lado, el análisis molecular del espaciador intergénico del ARNr (IGS) y el espaciador transcrito interno (ITS-1) mostraron diferencias con las secuencias disponibles para *Marteilia* spp.

Palabras clave: Solénidos, Histopatología, Ultraestructura, rDNA SSU, *Marteilia*

Resumo

Os solénidos (Superfamilia Solenoidea) son moluscos bivalvos infaunales que viven en fondos brandos e caracterízanse por ter unha cuncha elongada e un pé grande adaptado para a escavación. En Galicia son un recurso importante a nivel socio-económico e a súa captura está suxeita a plans específicos de explotación. As especies máis importantes, a nivel comercial, son a navalla, *Ensis magnus* (= *E. arcuatus*) (Schumacher, 1817), o longueirón, *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) e o longueirón vello, *Solen marginatus* (Pulteney, 1799). A sustentabilidade da explotación comercial require do desenrolo de estratexias de xestión e control baseadas no coñecemento científico. Con este obxectivo, ao longo dos anos 90, iniciáronse estudos sobre as artes de pesca, a reprodución e cultivo destas especies. Esta tese céntrase no estado patolóxico deste recurso.

Para cada unha das tres especies principais realizouse un estudo histopatolóxico xeral que permitiu coñecer os simbioses e alteracións patolóxicas que se poden atopar nas zonas de produción galegas. Para profundar na caracterización e identificación dalgúns dos axentes patóxenos detectados, foi necesario aplicar técnicas de diagnóstico complementarias.

No caso da navalla, *E. magnus*, concluíuse que esta especie, nos bancos analizados, non presentaba parasitos de notificación obrigatoria e que ningún dos axentes patóxenos e alteracións detectados supoñía unha ameaza para a continuidade das poboacións. Con todo, fíxose un estudo máis amplo a nivel espacial e temporal, centrado nas infeccións por larvas de trematodos dixeneos. Este traballo permitiu avanzar na súa identificación e verificar a conclusión de que, aínda que a nivel individual os seus efectos son importantes, non hai risco a nivel poboacional pola súa baixa prevalencia.

Doutra banda, describíronse, por primeira vez, partículas virales infectando a unha especie de solénido.

No caso do longueirón, *E. siliqua*, levouse a cabo un estudo histopatolóxico completo en dous bancos e concluíuse, do mesmo xeito que en *E. magnus*, que estaba libre de parasitos de notificación obrigatoria e que a maioría dos axentes patóxenos e alteracións patolóxicas observadas non supoñían unha ameaza para as poboacións desta especie. Tamén levouse a cabo unha análise ultraestructural de dous tipos de inclusións basófilas atopadas na glándula

dixestiva. Unha das cales correspondeu a un virus similar ao descrito en *E. magnus*, e no outro tipo observáronse organismos procariotas. É destacable a detección dun tipo de neoplasia gonadal (xerminoma), xa descrita previamente en *E. magnus* en Galicia, e que aínda que mantén niveis de prevalencia e intensidade baixos merece ser vixiado.

O estudo patolóxico do longueirón vello, *S. marginatus*, aínda que recolle os simbioses e alteracións atopados nesta especie, estivo máis centrado nun cartografiado ao longo de toda a costa galega para coñecer a distribución do protozoo do xénero *Marteilia*. Especies do mesmo xénero causaron efectos devastadores en bancos de bivalvos en distintas partes do mundo. Fíxose un seguimento de 17 bancos marisqueiros, dos que únicamente se detectou o parasito en seis, cinco deles localizados na Ría de Arousa. Finalmente, o último dos traballos que compoñen esta tese, presenta a caracterización e identificación desta nova especie de *Marteilia*, que é a que presenta o maior número de esporas por esporanxio de todas as coñecidas, polo que se nomeou *Marteilia octospora*. Para a súa caracterización foi preciso profundar na ultraestrutura do parasito para marcar similitudes e diferenzas coas demais especies. Doutra banda, a análise molecular do espaciador interxénico do ARNr (IGS) e o espaciador transcrito interno (ITS-1) mostraron diferenzas coas secuencias dispoñibles para *Marteilia* spp.

Palabras chave: Solénidos, Histopatoloxía, Ultraestrutura, rDNA SSU, *Marteilia*

Abstract

The Superfamily Solenoidea is a group of infaunal bivalves which live buried in soft sea beds, with an elongated compressed and equivalve shell that allows easy penetration into the sediment. In Galicia Solenoidea is an appreciated marine resource for their commercial value and the harvesting is regulated by specific exploitation plans. The most important species, at commercial level, are the sword razor shell, *Ensis magnus* (= *E. arcuatus*) (Schumacher, 1817), the pod razor shell, *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) and the grooved razor shell, *Solen marginatus* (Pulteney, 1799). The sustainability of these resources claimed for the development of management and control strategies based on scientific knowledge. With this aim, studies on fishing gears, reproduction, and culture possibilities of those species were started since 1990s. The present thesis focuses on the pathological status of this resource. For each of the three species were carried out a general histopathological study to describe the different symbionts and pathological conditions affecting to this group along the Galician coast. To characterize and identify some of these pathogens was necessary to use other diagnostic techniques than the traditional histology.

In the case of the sword razor shell, the results of the histopathological survey did not show any notifiable parasite and the detected pathogens and conditions did not represent a threat for the Galician sword razor shell populations. Furthermore, a broader spatial and seasonal study on the digenean trematode larval infection was completed. This work allowed to make some strides in the identification of this parasite and to verify that even though at individual level its effects are important, there is no risk at the population level because of its low prevalence. Moreover, viral particles infecting Solenoidea species were first described.

In the case of the pod razor shell, *E. siliqua*, a histopathological survey was carried out in two important beds, in the same way as *E. magnus* this species was free of notifiable parasites and most of the observed pathogens and conditions did not represent a risk for Galician pod razor shell populations. Moreover, an ultrastructural analysis was performed by transmission electron microscopy in 2 types of basophilic inclusions from the digestive gland. One of these inclusions contained virus, similar to those described in *E. magnus*, and the

other one comprised prokaryotic organisms. It was remarkable the detection of a type of gonadal neoplasia (germinoma), previously reported in *E. magnus* from Galicia. Even though germinoma displays low prevalence and intensity it is worth monitoring this disease to ensure the optimum health status of this marine resource.

In the grooved razor shell, *S. marginatus*, the histopathological survey comprised all the symbionts and pathological conditions found in this species, although it was more focused on the protozoan *Marteilia*. Species belonging to the *Marteilia* genus have caused massive mortality episodes in different bivalve species around the world. Therefore, a monitoring in 17 sea beds throughout the Galician coast was carried out to ascertain the spatial distribution of this protozoan. The parasite was just detected in 6 out of 17 beds, 5 of them located in Ría de Arousa.

Finally, the last work of this dissertation includes the characterization and identification of the new species of *Marteilia*. This new species showed the higher number of spores (8) per sporangium reported in this genus, for that reason was named as *Marteilia octospora*. The characterization of this species was based on the study of its ultrastructure and also on the molecular profile of the intergenic spacer of the rDNA (IGS) and internal transcribed spacer (ITS-1), both markers showed differences with the sequences available for other *Marteilia* spp.

Key words: Solenoidea, Histopathological survey, Ultrastructure, rDNA SSU, *Marteilia*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
Sistemática, distribución geográfica y hábitat de los solénidos comerciales.....	1
Producción de solénidos en Galicia.....	3
Interés de los estudios patológicos de moluscos bivalvos.....	5
Principales patologías de los moluscos bivalvos.....	7
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	21
DESARROLLO DE LA TESIS.....	23
CAPÍTULO 1. Estudio histopatológico de poblaciones de navaja, <i>Ensis magnus</i> (= <i>Ensis arcuatus</i>), de Galicia.....	27
ARTÍCULO 1. Histological survey of symbionts and other conditions in razor clam <i>Ensis arcuatus</i> (Jeffreys, 1865) (Pharidae) of the coast of Galicia (NW Spain).....	29
ARTÍCULO 2. Viral basophilic inclusions in the digestive gland of razor clams <i>Ensis arcuatus</i> (Pharidae) in Galicia (NW Spain).....	31
ARTÍCULO 3. Epidemiological survey of digenean trematodes affecting razor clams, <i>Ensis arcuatus</i> , from Galicia (NW Spain).....	33
CAPÍTULO 2. Estudio histopatológico de poblaciones de longueirón (<i>Ensis siliqua</i>) de Galicia.....	37
ARTÍCULO 4. Histological survey of symbionts and other conditions of pod razor clam <i>Ensis siliqua</i> (Linnaeus, 1758) in Galicia (NW Spain).....	39
CAPÍTULO 3. Estudio histopatológico de las poblaciones de longueirón vello (<i>Solen marginatus</i>) de Galicia y caracterización molecular de la nueva especie <i>Marteilia octospora</i> n. sp.....	43
ARTÍCULO 5. <i>Marteilia</i> sp. and other parasites and pathological conditions in <i>Solen marginatus</i> populations along the Galician coast (NW Spain)	45
ARTÍCULO 6. A novel paramyxean parasite, <i>Marteilia octospora</i> n. sp. (Cercozoa) infecting the Grooved Razor Shell clam <i>Solen marginatus</i> from Galicia (NW Spain)...	47
DISCUSIÓN GENERAL.....	51
CONCLUSIONES GENERALES.....	57
BIBLIOGRAFÍA	61





INTRODUCCIÓN



Sistemática, distribución geográfica y hábitat de los solénidos comerciales

Los solénidos son un grupo de moluscos bivalvos infaunales que, viven en fondos blandos y se caracterizan por tener una concha alargada, equivalva e inequilateral, y un pie grande adaptado para la excavación, que les permite penetrar en el sedimento.



Figura 1. Especies de solénidos comerciales en Galicia.

En lo que se refiere a la sistemática actual del grupo, la base de datos World Register of Marine Species (WoRMS), incluye a los solénidos en la clase Bivalvia, subclase Heterodonta, superfamilia Solenoidea, y, dentro de esta, en dos familias diferentes: la familia Solenidae (que incluye entre otros al género *Solen*) y la familia Pharidae (que incluye al género *Ensis*) (Fig. 2).

Reino	Animalia
Subreino	Bilateria
Infrarreino	Protostomia
Superfilo	Lophozoa
Filo	Mollusca
Clase	Bivalvia Linnaeus, 1758
Subclase	Heterodonta Neumayr, 1884
Orden	Veneroida H. Adams and A. Adams, 1856
Superfamilia	Solenoidea Lamarck, 1809
Taxones hijos :	
Familia	<u>Pharidae</u> H. Adams and A. Adams, 1858
Familia	<u>Solenidae</u> Lamarck, 1809

Figura 2. Jerarquía taxonómica de los solénidos.

En cuanto a la distribución geográfica, las especies del género *Ensis* se encuentran geográficamente muy dispersas, aunque el centro de distribución parece estar en las costas europeas, expandiéndose hasta la zona tropical del Oeste de África y a las dos costas de América del Norte (Fig. 3). En España, las especies del género *Ensis* se encuentran en la zona sublitoral de la costa atlántica, principalmente en la costa de Galicia. Las especies del género *Solen*, en cambio, son predominantemente tropicales y subtropicales, distribuyéndose mayoritariamente en la región Indo-Pacífica (Fig. 4), aunque existen datos de *Solen* spp. a lo largo de las costas atlánticas europeas, en el Este y Oeste del Pacífico, en las costas norteamericanas y en regiones del Océano Índico, entre otras (Darriba y Fernández-Tajes, 2011). En el litoral español la especie más común dentro de este género es *Solen marginatus* (Pennánt, 1777), siendo además la única autóctona, apareciendo tanto en el litoral atlántico como en el Mediterráneo, generalmente, en la región intermareal y submareal de zonas protegidas.



Figura 3. Mapa de distribución global del género *Ensis* (mapa extraído de Global Biodiversity Information Facility (GBIF) <http://www.gbif.org/species>).



Figura 4. Mapa de distribución global del género *Solen* (mapa extraído de Global Biodiversity Information Facility (GBIF) <http://www.gbif.org/species>).

Producción de solénidos en Galicia

España es el mayor importador de solénidos procedentes de países europeos (Irlanda, Escocia, Italia, etc.) y de Sudamérica (Argentina, Chile y Perú) (Guerra, 2013). La producción nacional procede prácticamente en su totalidad de las costas gallegas y está orientada al mercado de consumo fresco, mientras que la importada se destina a la industria conservera, de la cual España es el principal exportador europeo (Guerra, 2013).

Las especies de solénidos más importantes a nivel comercial en Galicia son la navaja, *Ensis magnus* (= *E. arcuatus*) (Schumacher, 1817), el longueirón, *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) y el longueirón vello, *Solen marginatus* (Pulteney, 1799). La captura de estas especies está sujeta a planes generales elaborados por las entidades asociativas del sector, las cuales participan activamente en la gestión de los recursos marisqueros mediante la presentación de planes de explotación para las zonas de explotación autorizadas y para las zonas de libre marisqueo. Estos planes de explotación, posteriormente, son evaluados por la administración para su aprobación (D.O.G nº 248 del 30 de diciembre de 2015). En el año 2016, 36 cofradías gallegas han explotado este recurso con un total de 25 planes de explotación en vigor, 317 embarcaciones y 576 personas autorizadas para su explotación, siendo el arte más empleado para su recolección el buceo en apnea y/o con suministro de aire desde superficie, mientras que la extracción a pie es minoritaria (datos extraídos de la Plataforma Tecnolóxica da Pesca - Consellería do Mar).

La talla mínima de captura para las especies del género *Ensis* es 100 mm, mientras que en *S. marginatus* es de 80 mm (D.O.G nº 226 del 27 de noviembre del 2012, Orde

do 27 de xullo de 2012 pola que se regulan os tamaños mínimos de diversos produtos pesqueiros na Comunidade Autónoma de Galicia).

La producción media de solénidos en Galicia en los 5 últimos años (2011-2015) fue de en torno a 370 t anuales, alcanzando una facturación media anual de primera venta de más de 3 millones de euros (Plataforma Tecnolóxica da Pesca - Consellería do Mar).

Las capturas de navaja, la especie económicamente más rentable dentro de los solénidos, han presentado un incremento paulatino en los últimos 7 años, pasando de una producción de aproximadamente 194 t en 2008 a 459 t en el 2015 (Fig. 5) y representando en 2015 el 88% de la producción total de solénidos en Galicia. La producción de longueirón y longueirón vello fueron menores, oscilando según los años (Fig. 5). El longueirón vello es una especie menos apreciada a nivel comercial, siendo su consumo más local. Los factores que intervienen en la cuantía de las capturas de estos y otros bivalvos no están relacionados únicamente con la riqueza de los bancos marisqueros, sino que dependen también de la demanda del mercado y de la escasez de las especies de bivalvos que son objeto de explotación prioritaria por los mariscadores. Así pues, la escasez de berberecho en las Rías Bajas, tras las mortalidades iniciadas en 2012, puede haber favorecido que, en algunas zonas, las capturas se deriven a especies económicamente menos rentables, como el longueirón vello.

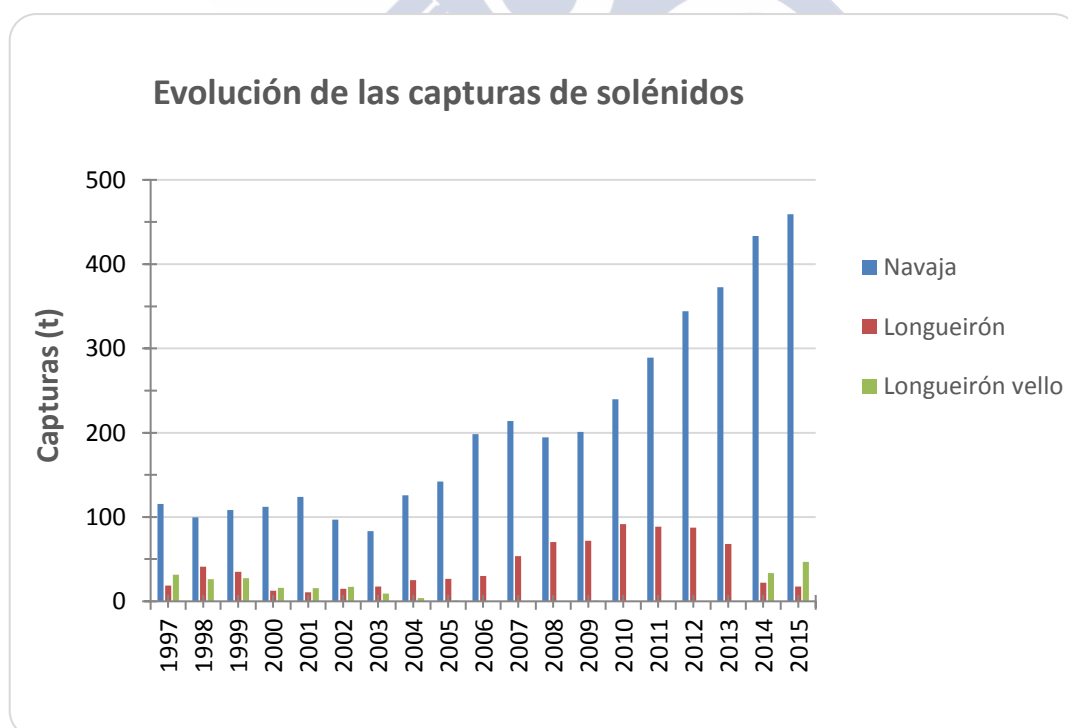


Figura 5. Evolución de las capturas (t) de las tres especies de solénidos explotables en Galicia entre los años 1997 y 2015.

Interés de los estudios patológicos de moluscos bivalvos

En el año 2013 la producción mundial de moluscos de acuicultura fue de 15,5 mll t. La contribución de la Unión Europea a esta producción fue del 3,7%, 573.366 t que equivalen a unos 1.123 mll €. El principal país productor de moluscos de la UE es España, sustentado en el cultivo de mejillón, seguido de Francia e Italia (Fig. 6) (Fuente: www.observatorio-acuicultura.es).

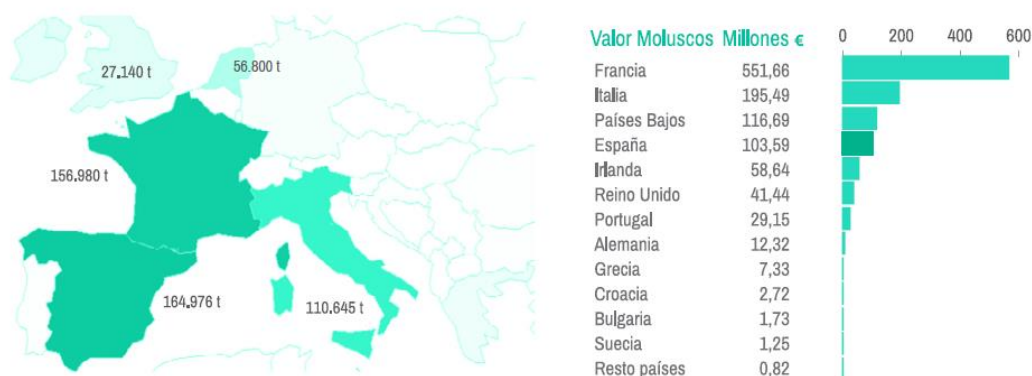


Figura 6. Producción anual de moluscos en los países miembros de la UE en el año 2013 (FAO).

La acuicultura de mejillón de la UE supuso 440.775 t en 2013, representando aproximadamente un 77% de la producción total de moluscos. Le sigue el ostión japonés (89.327 t, 15,6%) y la almeja japonesa (31.933 t, 5,6%). Otras especies importantes en cuanto a producción son la almeja fina, la ostra europea y el berberecho. Especies como vieiras, navajas, escupiñas, etc. se obtuvieron en cantidades inferiores (www.observatorio-acuicultura.es).

A nivel nacional, Galicia es el principal productor de mejillón, ostra plana y ostra japonesa, entre otras especies. La extracción de moluscos representa por tanto un sector estratégico desde el punto económico y social para la comunidad gallega. Entre las principales amenazas, para el sector productor de moluscos en Galicia, se encuentran enfermedades de tipo infeccioso, como por ejemplo la marteiliosis en el berberecho, la perkinsosis en las almejas y la bonamiosis en la ostra plana; así mismo la sobrepesca, factores de tipo ambiental o la disminución de la calidad ambiental del agua.

Desde el año 1992 en Galicia se vienen desarrollando Planes Anuales de Explotación Marisquera para las principales especies de moluscos comerciales, basados en el conocimiento científico-técnico previo; permitiendo una explotación más racional de estos recursos.

Los solénidos cobraron relevancia como recurso emergente a lo largo de los años 90 (Alonso-González y Mariño Folla-Cisneros, 1994), siendo en 1998 cuando se incluyeron dentro del grupo de los recursos específicos, que son aquellos que por sus características biológicas, por la técnica de extracción o por la especificidad de su comercialización requieren de un sistema de gestión que atienda a sus particularidades. Durante la década de los 90 se iniciaron estudios enfocados a la regulación de la extracción (artes de pesca, reproducción y posibilidades de cultivo).

Pero otro elemento crucial para abordar cualquier aspecto relacionado con la gestión es el conocimiento científico de los agentes causales de las enfermedades, bien sea para la prevención, el control de la expansión de las enfermedades o incluso el ambicioso objetivo de la erradicación, que a día de hoy es un objetivo casi utópico, especialmente tratándose de bancos naturales o cultivos en medio abierto. Por lo tanto, para la gestión de la salud de los bivalvos es fundamental contar con técnicas de diagnóstico eficientes y validadas que permitan profundizar en el estudio de las enfermedades.

Cameron (2002), publicó un manual con instrucciones para llevar a cabo la vigilancia de las enfermedades de organismos acuáticos y estableció los siguientes objetivos para un estudio epidemiológico:

1. Identificación de las enfermedades presentes en una población.
2. Determinación del nivel de afectación y su localización.
3. Determinación de la importancia de las diferentes enfermedades presentes.
4. Planificación, implementación y monitorización de los programas de control de las enfermedades.

Según Cameron (2002), la base del estudio epidemiológico requiere del desarrollo de las siguientes etapas:

1. Examen clínico y descripción epidemiológica, a partir del examen de los animales afectados.
2. Análisis de laboratorio basados principalmente en la observación mediante técnicas de microscopía óptica, tales como improntas y análisis histopatológicos, con el objetivo de observar los órganos afectados y diagnosticar el agente causal de la enfermedad.
3. Pruebas de laboratorio más sofisticadas, como técnicas de microscopía electrónica y herramientas moleculares, para una identificación más específica del agente causal.

Recientemente, Carnegie et al. (2016) han publicado una revisión en la que hacen una profunda reflexión sobre la gestión de las enfermedades de los moluscos marinos, desde el punto de vista de los intercambios comerciales, centrándose en la política de vigilancia sanitaria y en otras preocupaciones emergentes. En sus conclusiones indican que para mejorar la gestión de las enfermedades de moluscos es necesario abordar los siguientes aspectos:

1. Establecer programas de vigilancia de amplia cobertura para definir la distribución de patógenos dentro de las poblaciones.
2. Garantizar una buena formación en el uso de métodos generales, tales como la histopatología, para asegurar la detección de enfermedades emergentes, que de otra manera no se detectan hasta que se producen grandes pérdidas.
3. Incrementar el esfuerzo en la evaluación y validación de las técnicas diagnósticas para asegurar que las más avanzadas se realizan con los estándares requeridos para el diagnóstico.
4. Invertir en investigación para implementar el conocimiento y conseguir despejar dudas clave que reduzcan la incertidumbre en múltiples aspectos que tienen que ver con la reglamentación y la gestión.
5. Aplicar análisis de riesgos para evitar las parálisis reglamentarias a las que se enfrentan los gestores que tienen que velar tanto por la protección de los recursos naturales como por la producción acuícola.

Principales patologías de los moluscos bivalvos

Las patologías más importantes reportadas en moluscos bivalvos, tanto en Galicia como a nivel mundial, están causadas por virus, procariotas, protozoos y metazoos. Existen además, alteraciones patológicas, como la neoplasia que también se han asociado con mortalidades importantes.

1. Virus

Los virus que afectan a los moluscos bivalvos han sido objeto de estudio desde que Farley hizo referencia a partículas virales en ostra en el año 1969 (Farley, 1969), más tarde identificadas, por el mismo autor, como virus de tipo herpes (Farley et al., 1972). En la actualidad existen varias revisiones bibliográficas sobre virus en bivalvos (Bower, 2010b; Elston, 1997; Figueras, 2011; López et al., 2012; Renault y Novoa, 2004).

Los virus reportados en bivalvos pertenecen principalmente a las familias: *Baculoviridae*, *Birnaviridae*, *Iridoviridae*, *Malacoherpesviridae*, *Papillomaviridae*, *Paramyxoviridae*, *Picornaviridae*, *Polyomaviridae*, *Reoviridae*, *Retroviridae*, y *Togaviridae* (revisado por López et al., 2012).

En las costas gallegas, de entre todas estas familias, partículas virales con morfología similar a la familia de los Picornavirus fueron asociadas a mortalidades en almeja fina *Venerupis decussata* (= *Ruditapes decussatus*) (Novoa y Figueras, 2000) y posteriormente se detectaron en berberecho (*Cerastoderma edule*) (Carballal et al., 2003). Se han observado partículas virales de tipo Polyomavirus infectando ejemplares de almeja japonesa (*Venerupis philippinarum* (= *Tapes semidecussatus*)) (Montes et al., 2001). En el caso de la ostra rizada (*Crassostrea gigas*) cultivada en Galicia también se han detectado casos de hipertrofia gametocítica asociada a virus tipo Polyoma o Papiloma (Iglesias et al., 2012).

Romalde et al. (2007) aislaron partículas virales de tipo retrovirus en células neoplásicas de berberecho y detectaron actividad retrotranscriptasa. Además, se han observado partículas virales hiperparasitando a otros agentes patógenos de bivalvos, frecuentemente procariotas, como es el caso de la almeja rubia (*Politapes virgineus*) parasitada por procariotas de tipo Rickettsia (Darriba et al., 2012).

En la actualidad la enfermedad de origen vírico más relevante en las costa atlántica europea, también presente en Galicia, es la causada por la nueva variante del herpesvirus de la ostra (OsHV-1 μ var), que afecta a semilla y juveniles de ostra rizada (*Crassostrea gigas*) (http://www.magrama.gob.es/app/jacumar/planes_nacionales/Documentos/116_IF_HERPEMOL.pdf).

2. Bacterias

Los moluscos bivalvos, por su condición de organismos filtradores, pueden presentar una alta carga bacteriana, la mayoría bacterias oportunistas pero también patógenas, algunas de ellas pueden llegar a colonizar al hospedador dependiendo de factores ambientales que pueden modular la relación bivalvo-bacteria. Las enfermedades de tipo bacteriano son sobre todo frecuentes durante los estadios larvarios y la fase de juvenil en cultivos intensivos de bivalvos, aunque también pueden afectar a ejemplares adultos. Entre las enfermedades causadas por organismos procariotas que afectan a ejemplares adultos de moluscos bivalvos en Galicia destacan la enfermedad del anillo marrón, provocada por *Vibrio tapetis*, descrita en diferentes especies de almeja aunque la almeja japonesa parece la especie más sensible a la enfermedad con algún episodio de mortalidad asociado (revisado por Bower, 2010a; Paillard, 2004). Así como, las inclusiones intracelulares de tipo Rickettsial en diferentes especies de almeja (Villalba et al., 1993a), berberecho (*C. edule*) y mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) (Carballal et al., 2001; Darriba et al., 2012; Villalba et al., 1997; Villalba et al., 1999) las cuales han sido asociadas, en algunos casos, con mortalidades (Darriba et al., 2012; Villalba et al., 1999).

3. Algas

Existe asociación entre bivalvos marinos y microalgas, que abarcan desde el mutualismo hasta el verdadero parasitismo. Dentro de las algas parásitas intracelulares destacan la microalga verde *Coccomyxa* descrita en mejillón, *M. galloprovincialis*, de Galicia provocando masas de tipo granulomatoso en los tejidos del hospedador y en los casos de intensidad avanzada incluso la erosión de la cara interna de las valvas (Crespo et al., 2009).

4. Hongos

Entre las referencias bibliográficas a cerca de infecciones provocadas por hongos en moluscos bivalvos en Galicia se encuentran las infecciones causadas por microsporidios (phylum Microsporidia). Se han observado microsporidios *Steinhausia mytilovum* en mejillón (*M. galloprovincialis*) (Villalba et al., 1997) y *Steinhausia* sp. en ovocitos de berberecho (*C. edule*) (Carballal et al., 2001). En general, las prevalencias o intensidades observadas no han sido elevadas, aunque altas intensidades de este parásito podrían afectar a la viabilidad de los ovocitos infectados y por tanto a la fecundidad (revisado por Bower, 2012).

5. Protozoos

Se empleará el término protozoo, según su definición tradicional, para designar a aquellos organismos microscópicos, unicelulares eucariotas.

Entre los protozoos que han sido descritos como parásitos de moluscos bivalvos en Galicia destacan los siguientes:

5.1. Marteilia:

Se han descrito infecciones por protozoos del género *Marteilia* en molusco bivalvos a lo largo de todo el mundo, provocando, en algunos casos, mortalidades masivas recurrentes con grandes pérdidas económicas (revisado por Carrasco et al., 2015), siendo la enfermedad causada por la especie *Marteilia refringens* de declaración obligatoria para la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2016).

Las especies del género *Marteilia* se caracterizan por la capacidad de producir células terciarias a partir de divisiones sucesivas en el interior de una célula primaria. Los estados iniciales aparecen en el epitelio del estómago y de los túbulos digestivos en moluscos bivalvos (Grizel et al., 1974), mientras que los estados avanzados del parásito aparecen en los túbulos de la glándula digestiva. La invasión de la glándula digestiva por el parásito puede reducir la eficiencia de absorción del alimento y por tanto disminuir el índice de condición y las reservas de glucógeno (Villalba et al.,

1993b) pudiendo provocar la muerte del hospedador. No se conocen las vías de transmisión y se especula con la existencia de un hospedador intermediario, necesario para cerrar el ciclo de vida del parásito (revisado por Carrasco et al., 2015).

En las costas gallegas, está presente la especie *Marteilia refringens* tanto en el mejillón autóctono (*Mytilus galloprovincialis*) como en la especie invasora *Xenostrobus securis* y ocasionalmente se detectaron positivos en ostra plana (*O. edulis*) (Alderman, 1979; Darriba, 2016; Pascual et al., 2010) y recientemente se ha identificado la especie *Marteilia cochillia* asociada con un episodio de mortalidad en berberecho (Villalba et al., 2014).

5.2. Perkinsus:

Los protozoos del género *Perkinsus* son conocidos parásitos de bivalvos y gasterópodos marinos, con una distribución ubicua y en ocasiones asociados a episodios de mortalidades masivas (Villalba et al., 2004). Las especies del género *Perkinsus* poseen fases de trofozoíto (fase más habitual en los tejidos del hospedador), los cuales presentan un núcleo periférico con un nucléolo patente y una vacuola, que a veces muestra un vacuoplasto. En ausencia de oxígeno, situación que se da con la muerte del hospedador, los trofozoítos aumentan de tamaño y se rodean de una pared gruesa formando estructuras de resistencia denominadas hipnoesporas. Cuando las hipnoesporas son liberadas al agua se produce la zooesporulación, formándose zooesporangios en un proceso que culmina con la liberación de zooesporas flageladas. Todos los estadios de vida de *Perkinsus* tienen capacidad infectiva, aunque se cree que la fase más infectiva es la fase de zooespora. La transmisión de la enfermedad se realiza de hospedador a hospedador. Actualmente, este género se compone de 7 especies aceptadas (Moss et al., 2008; Villalba et al., 2004), entre las cuales destacan las especies *P. marinus* y *P. olseni* por su patogeneicidad, apareciendo ambas en el listado de enfermedades de declaración obligatoria para la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2016). En Galicia, se ha descrito la especie *P. olseni* en diferentes especies de almeja, como la almeja fina (*R. decussatus*), la almeja japonesa (*R. philippinarum*), y la almeja babosa (*Venerupis corrugata*) (Casas et al., 2002; Ramilo et al., 2016; Robledo et al., 2002) y en berberecho (*C. edule*) (Darriba et al., 2010). En almeja japonesa se detectaron dos casos aislados con *Perkinsus chesapeakei* en ejemplares infectados por *P. olseni* (Ramilo et al., 2016).

5.3. Haplosporidios:

El filo Haplosporidia se divide en cuatro géneros: *Bonamia*, *Haplosporidium*, *Urosporidium* y *Minchinia*.

5.3.1. Género *Bonamia*:

Dentro de este género destaca la especie *Bonamia ostreae*, causante de la enfermedad hemocitaria de la ostra plana, la cual ha provocado importantes

episodios de mortalidad principalmente en la costa atlántica Europea y en el litoral pacífico y atlántico de los EE.UU (revisado por Arzul y Carnegie, 2015). Este protozoo se desarrolla en el interior de los hemocitos causando inflamaciones muy intensas en las branquias, aunque también puede afectar a otros órganos. Otra especie de *Bonamia* que afecta a bivalvos marinos en Galicia es la *B. exitiosa*, la cual ha sido descrita en concurrencia con *B. ostreae* en la ostra plana (Abollo et al., 2008). Debido a los episodios de mortalidad provocados por *B. ostreae* y *B. exitiosa*, ambas especies están incluidas en el listado de enfermedades de declaración obligatoria de la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2016).

5.3.2. Género *Haplosporidium*:

Dentro de las enfermedades causadas por especies del género *Haplosporidium* destaca la MSX, también conocida como enfermedad de la esfera multinucleada desconocida, provocada por la especie *Haplosporidium nelsoni*. La MSX ha provocado mortalidades masivas principalmente en la ostra *Crassostrea virginica* en la costa atlántica de EE.UU (revisado por Arzul y Carnegie, 2015; Burreson y Ford, 2004). En Galicia, se ha detectado la especie de haplosporidio *Haplosporidium edule* en berberecho (*C. edule*) (Azevedo et al., 2003).

5.3.3. Género *Minchinia*:

Los géneros *Minchinia* y *Haplosporidium* se diferencian por la ornamentación de la pared de la espora (revisado por Burreson y Ford, 2004). La especie *Minchinia tapetis* ha sido descrita en almeja fina (*Ruditapes decussatus*) en Portugal y Noroeste de España (Azevedo, 2001), aunque no se ha detectado mortalidad asociada.

5.3.4. Género *Urosporidium*:

El género *Urosporidium* se caracteriza por tener una pestaña interna derivada de la pared de la espora recubriendo el orificio de la misma, mientras que los géneros *Minchinia* y *Haplosporidium* presentan un opérculo articulado externo recubriendo el orificio de la espora. Se han descrito diferentes especies de *Urosporidium* parasitando trematodos o nematodos a su vez parasitando moluscos bivalvos marinos (Burreson y Ford, 2004), aunque no asociados a mortalidades. En Galicia, se han descrito esporas de un *Urosporidium* no identificado, que recuerdan a las esporas de la especie *U. spisuli*, en el turbelario *Paravortex cardii*, a su vez parasitando al berberecho, *C. edule* (Carballal et al., 2005).

5.4. Género *Mikrocytos*:

Microcélulas de la especie *Mikrocytos mackini* han sido asociadas a lesiones y mortalidad en ostra japonesa (*Crassostrea gigas*). En Galicia, se ha detectado un

parásito de tipo *Mikrocytos* infectando el tejido conectivo de diferentes órganos en la almeja japonesa *Ruditapes philippinarum* asociado con un episodio de mortalidad, aunque la presencia de anillo marrón en dichos ejemplares sugiere que dichas microcélulas no serían por si solas las responsables de dichas mortalidades (Ramilo et al., 2014).

5.5. Gregarinas y Coccidios:

Las gregarinas y los coccidios, ambos pertenecientes al grupo de los Apicomplexa, son pársitos habituales de moluscos bivalvos marinos, sin embargo sus ciclos de vida todavía no están muy estudiados.

Dentro de las gregarinas, el género *Nematopsis* ha sido descrito por utilizar a los moluscos bivalvos como hospedadores intermediarios. Estados de gimnospora y ooquiste (esporas de gregarina que contienen uno o más esporozoítos uninucleados vermiformes), o esporozoítos desnudos aparecen generalmente en el interior de hemocitos, lo que les permite ser transportados alcanzando la mayoría de órganos, aunque aparecen con mayor frecuencia en las branquias (Bower y McGladdery, 2009). Este género ha sido reportado en diversas especies de moluscos bivalvos comerciales en Galicia, como la almeja rubia (*P. rhomboides*), la almeja fina (*Ruditapes decussatus*), la almeja japonesa (*R. philippinarum*), el longueirón vello (*Solen marginatus*), el mejillón (*M. galloprovincialis*), el berberecho (*C. edule*) y la tellina (*Garis depressa*), en ocasiones asociado con infiltraciones hemocitarias locales, pero generalmente sin causar daños significativos en el hospedador (Carballal et al., 2001; Soto et al., 1996; Villalba et al., 1999).

Además, en el caso de la almeja rubia y del berberecho se ha descrito una supuesta gregarina en el epitelio del intestino y tejido conjuntivo circundante (Carballal et al., 2001; Villalba et al., 1999). Un protozoo similar es identificado, sin embargo, como supuesto coccidio por Navas (2008).

Se han descrito pocas especies de coccidios en moluscos bivalvos, y éstos generalmente suelen aparecer en los túbulos renales, aunque también se han detectado en gónada, intestino, glándula digestiva, branquias, aurícula y músculo (Desser y Bower, 1997; Kristmundsson et al., 2011a; Kristmundsson et al., 2011b; Lauckner, 1983; Nakayama et al., 1998). Los coccidios observados en bivalvos marinos se han asignado generalmente a los géneros *Pseudoklossia* (familia Aggregatidae) y *Margolisiella* (familia Eimeriidae). En Galicia, se han descrito coccidios de tipo *Pseudoklossia* en los túbulos renales del berberecho (Carballal et al., 2001), de la almeja rubia (Villalba et al., 1999) y del mejillón (Figueras et al., 1991; Robledo et al., 1994b; Villalba et al., 1997). Las infecciones intensas por coccidios pueden llegar a causar la oclusión de túbulos renales afectados (Carballal et al., 2001; Cremonte et al., 2005; Leibovitz et al., 1984; Morado et al., 1984). No obstante, la presencia de mortalidad asociada parece estar restringida únicamente a condiciones de cultivo (Bower, 2007).

5.6. Ciliados:

Los ciliados aparecen frecuentemente en la cavidad paleal de un rango amplio de moluscos bivalvos, con una distribución geográfica ubicua y por lo general no generan respuesta defensiva importante por parte del hospedador, considerándolos como comensales. No obstante, se han descrito casos de prevalencias y/o intensidades elevadas (Bower et al., 1994a; Bower et al., 1994b; Bower y McGladdery, 2001). Entre los ciliados descritos en moluscos bivalvos en Galicia destacan los ciliados de la especie *Ancistrum mytili* (orden Thigmotrichida) identificados en el epitelio y en los tubos del agua de la branquia del mejillón *M. galloprovincialis* (Figueras et al., 1991; Robledo et al., 1994b; Villalba et al., 1997); los ciliados intracelulares de tipo Rynchodida descritos en el epitelio de los túbulos del digestivo del mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) (Figueras et al., 1991; Robledo et al., 1994b; Villalba et al., 1997), así como adheridos a los filamentos branquiales del berberecho (*C. edule*) (Carballal et al., 2001); ciliados del género *Trichodina* sp. (orden Mobilida) en las branquias del berberecho (Carballal et al., 2001); así como otros ciliados no identificados en branquia y lumen de los túbulos del digestivo de la almeja rubia *Polititapes* (= *Venerupis*) *rhomboides* (Villalba et al., 1999).

6. Metazoos

6.1. Turbelarios:

Los turbelarios (filo Platyhelminthes) que se han descrito asociados a moluscos bivalvos son rhabdocoelos pertenecientes a las familias Urastomidae y Graffillidae localizados en la cavidad paleal y en el lumen de la glándula digestiva, respectivamente (Cremonte, 2011). En la familia Graffillidae destaca el género *Paravortex*, turbelarios de la especie *Paravortex cardii* han sido descritos en el lumen del estómago del berberecho (*C. edule*) en Galicia (Carballal et al., 2001; Carballal et al., 2005), así como otros turbelarios de tipo *Paravortex* no identificados en el lumen de la glándula digestiva de diferentes especies de almeja, como *R. decussata*, *Venerupis corrugata*, *R. philippinarum*, *Polititapes aureus*, *P. virgineus* (López et al., 2012) y en lumen del intestino del mejillón *M. galloprovincialis* (Villalba et al., 1997). En muchos casos, los turbelarios han sido consideradas más como comensales que como auténticos parásitos (Lauckner, 1983). Sin embargo, Robledo et al. (1994a) observaron desorganización de los filamentos branquiales, infiltración hemocitaria intensa y necrosis del tejido branquial circundante asociada a la presencia de *Urastoma cyprinidae* (Urastomidae) en mejillón (*M. galloprovincialis*) en las costas gallegas, sugiriendo que la presencia de turbelarios podría reducir la capacidad de alimentación del hospedador en casos de intensidad de infección elevada.

6.2. Clase Cestoda:

Los cestodos se caracterizan por presentar ciclos de vida complejos con distintas fases larvarias (denominadas comúnmente metacestodos) que utilizan a los moluscos bivalvos como hospedadores intermediarios y a los peces elasmobranquios como hospedadores definitivos en su fase de adultos (Lauckner, 1983). La identificación, a nivel de especie, de estadios larvarios de cestodos en base a su morfología es complicada, aunque se han desarrollado métodos de cultivo in vitro y técnicas moleculares que han permitido la descripción de nuevas especies de cestodos (revisado por Cremonte, 2011; López et al., 2012). Fundamentalmente existen cuatro órdenes diferentes de cestodos que parasitan a bivalvos marinos: Tetraphyllidea, Trypanorhyncha, Lecanicephalidea y Diphyllidea (Cremonte, 2011). La presencia de larvas de cestodos en lumen del tubo digestivo de almejas de distintos bancos gallegos queda patente en los informes anuales del programa de monitoreo realizado por la Unidad de Patología del Intecmar (Darriba, 2016).

6.3. Clase Trematoda:

Se han descrito fases larvarias de trematodos digeneos en multitud de especies de bivalvos marinos, siendo considerados los principales metazoos parásitos de este grupo (Lauckner, 1983). Los trematodos de la subclase Digenea presentan ciclos de vida complejos que alternan fases de reproducción sexual y asexual. Los estadios larvarios parasitan un mínimo de dos hospedadores, de los cuales uno de ellos suele ser un molusco. Los moluscos suelen actuar tanto de hospedadores primarios, conteniendo esporocistes con estadios larvarios de cercaria en su interior, como de hospedadores secundarios presentando estadios de metacercaria, o bien ambos al mismo tiempo. No obstante, también se han observado moluscos actuando como hospedadores definitivos de trematodos.

Entre las principales familias de trematodos digeneos que emplean a moluscos bivalvos como hospedadores primarios se encuentran Bucephalidae, Sanguinicolidae, Monorchidae, Fellodistomidae cuyos hospedadores definitivos son generalmente peces y Gymnophallidae cuyos hospedadores definitivos son aves (Cremonte, 2011; Lauckner, 1983). Los esporocistes (fase larvaria), que contienen cercarias en desarrollo en su interior, se encuentran generalmente en la gónada del hospedador donde se dividen rápidamente, por reproducción asexual, pudiendo causar la castración total del animal y en casos avanzados, la infección se puede extender al resto de los órganos (Boehs et al., 2010; Calvo-Ugarteburu y Mc Quaid, 1998; Coustau et al., 1993; Cheng, 1967; Heasman et al., 1996; Lasiak, 1991, 1993; Lauckner, 1983). Además, se ha observado interferencia en el sistema circulatorio y deplección de las reservas energéticas, lo que conllevaría al debilitamiento e incluso la muerte del animal (Jonsson y Andre, 1992; Lauckner, 1983; Thieltges, 2006a). Otras alteraciones patológicas que se han reportado en infestaciones por esporocistes de trematodos, son disminución de la habilidad de enterramiento (haciéndolos más susceptibles a los predadores) y gigantismo (Cremonte et al., 2001; Lauckner, 1983). La

importancia de la infestación de los bivalvos a nivel poblacional depende de su prevalencia, esta varía en gran medida con las especies involucradas, el hábitat, la estación del año, la presencia de hospedadores definitivos, la edad, etc. (Cremonte, 2011).

En Galicia, se han descrito esporocistes y cercarias del trematodo *Protoectes maculatus* (Fellodistomidae) mayoritariamente en manto, pero también en glándula digestiva, pie, riñón y branquias del mejillón (*M. galloprovincialis*) (Villalba et al., 1997), así como esporocistes de *Labratrema minimus* (Bucephalidae) en la gónada del berberecho (*C. edule*) (Iglesias, 2006). Además, se han descrito trematodos digeneos no identificados en berberecho, almeja rubia y en longueirón vello (Carballal et al., 2001; Rodríguez et al., 2009; Villalba et al., 1999).

Entre las familias de trematodos que emplean a moluscos bivalvos como hospedadores secundarios se encuentran la Monorchidae, Lepocreadiidae, Zoogonidae y Fellodistomidae, cuyos hospedadores definitivos son peces y los Gymnophallidae, Echinostomatidae, Psilostomatidae y Renicolidae, cuyos hospedadores definitivos son aves (Cremonte, 2011; Lauckner, 1983). La fase larvaria que albergan los bivalvos cuando actúan como hospedadores secundarios es la de metacercaria, estas frecuentemente aparecen enquistadas en diferentes tejidos, aunque también pueden aparecer sin enquistar en la cavidad paleal. Se han descrito diferentes patologías asociadas a la parasitación por metacercarias: reducción del crecimiento y la supervivencia (Desclaux et al., 2002; Lauckner, 1987; Thieltges, 2006b; Wegeberg y Jensen, 2003), hipertrofia o atrofia, debilitamiento, deformidad de las valvas, formación de crestas y ampollas, alteraciones del comportamiento favoreciendo la predación por parte de los hospedadores definitivos e incremento de la actividad metabólica (Lauckner, 1983). Asimismo, algunas de las metacercarias pertenecientes a las familias Echinostomatidae y Gymnophallidae pueden presentar importancia desde el punto de vista sanitario por ser parásitos potenciales para el hombre (Lauckner, 1983; Lee et al., 1993; Lee et al., 1996). En el caso de Galicia, se han descrito metacercarias *Curtuteria* sp. (Familia Echinostomatidae) enquistadas en la glándula pericárdica del longueirón vello en Galicia, con prevalencia e intensidad elevada (Rodríguez et al., 2009), así como metacercarias pertenecientes a *Meiogymnophallus minutus* (Gymnophallidae), *Meiogymnophallus fossarum* (Gymnophallidae) e *Himasthla* sp. (Echinostomatidae) en el manto y el pie, respectivamente, del berberecho *C. edule* (Iglesias, 2006). Además, en esta misma especie se describieron otras metacercarias no identificadas (Carballal et al., 2001; Iglesias, 2006).

6.4. Copépodos

Los copépodos son los artrópodos parásitos más habitualmente reportados en moluscos bivalvos (Lauckner, 1983). Se han descrito una gran cantidad de especies de copépodos parasitando bivalvos, la mayor parte pertenecientes al orden Cyclopoida y

en menor medida al orden Harpacticoida (Cremonte, 2011). Los copépodos generalmente se localizan adheridos a las branquias o en el lumen del intestino, y generalmente son inocuos para el hospedador, debido a la baja prevalencia e intensidad con la que aparecen (Bower, 2002). En Galicia, se han descrito copépodos *Mytilicola intestinalis* en el lumen del digestivo del mejillón *M. galloprovincialis* (Figueras et al., 1991; Villalba et al., 1997), copépodos de tipo *Mytilicola* en el lumen del intestino del berberecho (*C. edule*) (Carballal et al., 2001), así como otros copépodos no identificados en lumen del digestivo y branquias de la almeja rubia (*P. virgineus*) y en branquias y cavidad paleal del berberecho (Carballal et al., 2001; Villalba et al., 1999).

7. Neoplasmas

Los neoplasmas se definen como masas anormales de tejido causado por una proliferación celular incontrolada y progresiva que continúa tras la desaparición del estímulo original (Sparks, 1985). En moluscos bivalvos, se han descrito fundamentalmente dos tipos de neoplasmas: la neoplasia diseminada y un tipo de neoplasia gonadal denominado germinoma. Ambos tipos se ajustan a la definición de tumor maligno, presentando células pleomórficas sin diferenciar, con un crecimiento rápido e invasivo, presencia de abundantes figuras mitóticas, metástasis y un crecimiento progresivo que resulta en la muerte del hospedador (Sparks, 1985). Tanto la neoplasia diseminada como el germinoma han sido observados en niveles epizooticos en diferentes especies de bivalvos causando, en ocasiones, pérdidas económicas importantes por lo que se ha dedicado un gran esfuerzo investigador a esta patología existiendo varias revisiones bibliográficas sobre este tema (Barber, 2004; Carballal et al., 2015; Elston et al., 1992; Pauley, 1969; Peters, 1988; Peters et al., 1994; Ruiz y López, 2012; Sindermann, 1990).

7.1. Germinoma

Existen tres histotipos de neoplasma gonadal en moluscos bivalvos: el germinoma, el neoplasma de origen estromal y el gonadoblastoma que sería un histotipo intermedio entre los dos anteriores (Barber, 2004; Peters et al., 1994). El germinoma es el histotipo más frecuente y se caracteriza por la sustitución del epitelio germinal normal por células poliédricas no diferenciadas que proliferan en lugar de madurar. Estas células presentan un citoplasma rosado núcleos vesiculares que suelen presentar cromatina marginal y un prominente nucleolo acidófilo (Hesselman et al., 1988), siendo frecuente la presencia de figuras mitóticas. El germinoma inicialmente aparece como pequeños focos en uno o más folículos gonadales, y posteriormente llena una gran parte, incluso la totalidad de los folículos, pudiendo invadir el tejido conectivo interfolicular, la pared del cuerpo, la cámara epibranquial y los conductos genitales en los casos más severos, destruyendo la arquitectura normal de la gónada (Hesselman et al., 1988; Peters et al., 1994) pudiendo llegar a interferir en la gametogénesis normal,

provocando una reducción de la fecundidad así como la muerte de los individuos afectados.

En Galicia, esta patología se ha detectado en *Mytilus galloprovincialis* en la Ría de Vigo (Alonso et al., 2001; Ruiz et al., 2011; Ruiz et al., 2013), en la especie invasora de mejillón *Xenotrobus securis* (Pascual et al., 2010), así como en la navaja *Ensis magnus* (= *E. arcuatus*) (Darriba et al., 2006).

En cuanto a la etiología del germinoma, se han propuesto diferentes teorías a lo largo de los años, aunque ninguna de ellas explicaría el total de los casos descritos, por lo que este tema sigue siendo objeto de controversia. Varios autores han investigado la posible asociación entre la neoplasia gonadal y la presencia de elevados niveles de diferentes contaminantes, como fuel oil (Barry y Yevich, 1975; Brown et al., 1977; Harshbarger et al., 1979; Yevich y Barszcz, 1976, 1977), herbicidas (Gardner et al., 1991), hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) y bifenilos policlorados (PCBs) (Ruiz et al., 2011; Ruiz et al., 2013). En el caso de Ruiz et al. (2011; 2013) se ha observado una correlación entre la prevalencia del germinoma y los niveles de PAHs y PCBs en los tejidos de *M. galloprovincialis*, lo cual supone una evidencia clara de la relación entre el germinoma y compuestos carcinogénicos ambientales (Carballal et al., 2015). Además, en ensayos de laboratorio, se ha observado que la exposición a sustancias como dioxinas o benzopireno puede provocar rotura de las hebras de ADN así como alterar la expresión de genes implicados en la regulación del ciclo celular en bivalvos (Di et al., 2011; Van Beneden et al., 1997). Sin embargo, el hecho de que no se haya podido inducir la enfermedad de forma experimental, que esta no aparece en todas las poblaciones expuestas a contaminación y que se han observado casos de germinoma en zonas libres de contaminación, arroja dudas acerca del rol de los contaminantes ambientales en el desarrollo de esta enfermedad.

7.2. Neoplasia diseminada

Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de células de gran tamaño, con forma redondeada u ovalada, anaplásicas, con una relación núcleo citoplasma alta, núcleos hipercromáticos a menudo polimórficos, conteniendo uno o más nucleolos prominentes, en ocasiones con presencia de figuras mitóticas y localizadas en el tejido conjuntivo de varios órganos, vasos y senos de la hemolinfa (Elston et al., 1992; Peters, 1988). La sustitución de las células normales por células neoplásicas provoca la pérdida de la arquitectura normal de órganos y tejidos, y con la progresión de la enfermedad finalmente la muerte del organismo; aunque se han observados casos de remisión de la enfermedad, al menos de forma temporal (Brousseau y Baglivo, 1991; Elston et al., 1988). Se han descrito casos de neoplasia diseminada en al menos 23 especies diferentes de bivalvos marinos y parece que la enfermedad presenta una distribución geográfica ubicua (Barber, 2004; Carballal et al., 2015; Elston et al., 1992). En las costas gallegas, en ocasiones esta patología ha sido asociada a episodios de mortalidad: en *Ostrea edulis* (Alderman et al., 1977; da Silva et al., 2011), en almeja bicuda *Polititapes aureus* (= *Venerupis aurea*) (Iglesias et al., 2007) y en berberecho *Cerastoderma edule*

(Ordás y Figueras, 2005; Villalba et al., 2001). Un estudio llevado a cabo por Díaz et al. (2016) en bancos de berberecho, a lo largo de siete años, concluye que la neoplasia diseminada es hiperendémica en Galicia y que está presente a lo largo de todo el año con valores mínimos de prevalencia en primavera debido a la mortandad de los individuos más afectados durante la época de madurez y puesta. Estudios recientes han puesto de manifiesto, en algunos bivalvos, que las células neoplásicas tienen un genotipo diferente al de las células sanas de sus hospedadores y que además de transmitirse de ejemplares enfermos a ejemplares sanos pueden incluso transmitirse entre especies (Metzger et al., 2015; Metzger et al., 2016).





JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS



Los solénidos cobraron relevancia como recurso emergente a lo largo de los años 90, cuando estaba teniendo lugar la reorganización y la profesionalización del sector marisquero. Se perfilaban como un recurso con gran potencial que permitía la diversificación del marisqueo hacia especies distintas de las tradicionales y como un nuevo nicho de ocupación laboral para las poblaciones costeras con bancos de estas especies, tanto intermareales como submareales. En el Centro de Investigaciones Mariñas, dependiente de la Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, se pusieron en marcha estudios que pretendían la evaluación del impacto de las artes y técnicas empleadas para su extracción, el conocimiento de los ciclos reproductivos para contar con criterios biológicos en el establecimiento de las vedas y también estudios orientados a valorar las posibilidades de cultivo. En 1998, los solénidos entraron a formar parte del grupo de los denominados “recursos específicos”, donde se engloban aquellas especies marisqueras que por sus características biológicas, su técnica de extracción o las especificidades de su comercialización requieren un sistema de gestión que atienda a estas particularidades. Una vez cubiertas las primeras necesidades de conocimiento surgió la necesidad de profundizar en el conocimiento de las patologías que les afectaban y que podían influir en la sostenibilidad de los principales bancos en los que se extraían estos recursos marisqueros. Tras los primeros resultados obtenidos a partir de los estudios histológicos para conocer los ciclos reproductivos y tras la detección de una especie de *Marteilia* infectando al longueirón vello (*Solen marginatus*) se consideró necesario estudiar a fondo las tres especies con los siguientes objetivos:

1. Caracterización a nivel histopatológico de los organismos simbioses y alteraciones patológicas que afectan a cada una de las tres especies comerciales de solénidos de Galicia en los bancos más importantes y en distintas épocas del año.
2. Avanzar en la identificación de aquellos simbioses y alteraciones patológicas de mayor importancia.
3. Evaluar si alguno de los agentes patógenos o alteraciones detectadas supone una amenaza para la continuidad de los bancos marisqueros.
4. Establecer una serie de recomendaciones, desde el punto de vista de la patología, cara a la sostenibilidad y mejor gestión de estos recursos.





DESARROLLO DE LA TESIS



CAPÍTULO 1. Estudio histopatológico de poblaciones de navaja, *Ensis magnus* (= *Ensis arcuatus*), de Galicia

Este capítulo ha sido publicado en las revistas:

Journal of Invertebrate Pathology 104(1):23-30. 2010

Autores: Darriba S, Iglesias D, Ruiz M, Rodríguez R, López C

Diseases of Aquatic Organisms 94(3):239-241. 2011

Ruiz M, Darriba S, Rodríguez R, Iglesias D, Lee R, López C

Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 32(1):3-13. 2012

Ruiz M, Iglesias D, Darriba S, Rodríguez R, López C



INTRODUCCIÓN

La navaja, *Ensis magnus* (= *Ensis arcuatus*) (Schumacher, 1817), es un molusco bivalvo infaunal que se encuentra en la costa litoral Norte de España, principalmente en Galicia, donde, es un recurso importante a nivel económico. Los bancos marisqueros más importantes, responsables de la mayor parte de la producción de navaja, están ubicados en la costa suroeste de esta comunidad. La gestión de este recurso marisquero requiere el desarrollo de estrategias basadas en el conocimiento científico.

Con el objetivo de mejorar la gestión, se han llevado a cabo diferentes trabajos, en esta especie: el análisis del impacto de las artes de pesca dedicadas a la extracción (Sebe y Guerra, 1997), su crecimiento (Darriba, 2001; Hernández-Otero et al., 2014a), ciclo reproductivo (Darriba et al., 2004; Darriba et al., 2005a; Hernández-Otero et al., 2014b), composición bioquímica (Darriba et al., 2005a), desarrollo embrionario y larvario (da Costa et al., 2008), las posibilidades de cultivo (da Costa et al., 2011) y su manejo en depuradora para optimizar la depuración previa a la puesta en el mercado para su consumo (López et al., 2005).

Desde el punto de vista patológico, en *E. magnus*, se han reportado infecciones bacterianas por colonias de tipo Chlamydia, gregarinas del género *Nematopsis* y trematodos en Irlanda (Fahy et al., 2002); y germinoma, *Nematopsis* sp. y trematodos en Galicia (Conchas et al., 2004; Darriba, 2001; Darriba et al., 2006).

Existen otros trabajos histopatológicos generales en otras especies de la familia Pharidae (superfamilia Solenoidea), como el llevado a cabo por Bilei et al. (1997) en *Ensis* sp. en Italia, en el que se reportaron oocistes de gregarinas, parásitos de tipo haplosporidio y metazoos helmintos. Posteriormente, Ceschia et al. (2001) realizó un estudio de las patologías en dos especies del género *Ensis* (*E. minor* y *E. siliqua*) también en las costas italianas, describiendo la presencia de protozoos de los géneros *Haplosporidium* y *Marteilia* en *E. minor* y de colonias de procariotas de tipo Rickettsia, gregarinas *Nematopsis* sp. y trematodos en *E. siliqua*. Más recientemente, se han llevado a cabo estudios histopatológicos en *E. macha* en la costa de Argentina y Chile, en la cual se cita la presencia de inclusiones procariotas de tipo Rickettsia, ciliados, coccidios, turbelarios del género *Paravortex*, esporocistes del trematodo digeneo Aporocotylidae y focos de infiltración hemocitaria de origen desconocido (Orellana y Lohrmann, 2015; Vazquez et al., 2013).

En este capítulo se ha realizado un estudio histopatológico general de los simbioses y otras alteraciones patológicas en *E. magnus* en tres importantes bancos comerciales de Galicia. Para ello se recogieron muestras desde Enero de 2003 hasta Julio del 2004, con periodicidad bimensual, en bancos de la Ría de Vigo y de Arousa.

Tras este estudio histopatológico general, en el artículo 2 de este capítulo se profundizó en la identificación de los cuerpos de inclusión basófilos hallados en las células epiteliales de los túbulos de la glándula digestiva de *E. magnus*. Con este fin, se aisló tejido infectado para su análisis mediante microscopía electrónica de transmisión.

Además, debido a su potencial patogénico, en el artículo 3 de este capítulo se realizó la caracterización ultraestructural de los esporocistes de trematodos digeneos. Para ello, se aislaron algunas cercarias *in vivo* y se procesaron por microscopía electrónica de barrido para describir su estructura superficial. Adicionalmente, se realizó un estudio epidemiológico entre los años 2008 a 2010 en diferentes bancos naturales de navaja situados en las Rías de Pontevedra y Vigo con el objetivo de determinar los niveles de infección actuales de los esporocistes de trematodos. Para ello se calculó la prevalencia de los esporocistes y se comparó estadísticamente con datos de años previos.



ARTÍCULO 1. Histological survey of symbionts and other conditions in razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Pharidae) of the coast of Galicia (NW Spain)

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201109002778>

Journal of Invertebrate Pathology 104 (2010) 23–30



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Invertebrate Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jip



Histological survey of symbionts and other conditions in razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Pharidae) of the coast of Galicia (NW Spain)

Susana Darriba^a, David Iglesias^b, Maite Ruiz^b, Rosana Rodríguez^b, Carmen López^{b,*}


^a Instituto Tecnológico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECOMAR), Consellería do Mar, Peirao de Vilaxoán, s/n, Vilagarcía de Arousa, 36611 Galicia, Spain

^b Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), Consellería do Mar, Pedras de Corón, s/n. Apdo. 13, Vilanova de Arousa, 36620 Galicia, Spain



ARTÍCULO 2. Viral basophilic inclusions in the digestive gland of razor clams *Ensis arcuatus* (Pharidae) in Galicia (NW Spain)

<http://www.int-res.com/abstracts/dao/v94/n3/p239-241/>



Vol. 94: 239–241, 2011 doi: 10.3354/dao02330	DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS Dis Aquat Org	Published May 9
---	--	-----------------

NOTE

Viral basophilic inclusions in the digestive gland of razor clams *Ensis arcuatus* (Pharidae) in Galicia (NW Spain)

M. Ruiz¹, S. Darriba², R. Rodríguez³, D. Iglesias¹, R. Lee⁴, C. López^{1,*}

¹Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), PO Box 36620, Vilanova de Arousa, Pontevedra, Spain

²Instituto Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR), PO Box 36611, Vilagarcía de Arousa, Pontevedra, Spain

³Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), PO Box 36331, Vigo, Pontevedra, Spain

⁴Consello Regulador do Mexillón de Galicia, PO Box 36600, Vilagarcía de Arousa, Pontevedra, Spain



ARTÍCULO 3. Epidemiological survey of digenean trematodes affecting razor clams, *Ensis arcuatus*, from Galicia (NW Spain)

https://eafp.org/download/2012-volume32/issue_1/3%20Lopez.pdf



Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 32(1) 2012, 3

Epidemiological survey of digenean trematodes affecting razor clams, *Ensis arcuatus*, from Galicia (NW Spain)

M. Ruiz¹, D. Iglesias¹, S. Darriba², R. Rodríguez¹ and C. López^{1*}

¹Centro de Investigacións Mariñas (CIMA). Consellería do Mar. Pedras de Corón, s/n. Apdo. 13, Vilanova de Arousa 36620. Galicia. Spain; ²Instituto Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR) - Consellería do Mar. Peirao de Vilaxoán, s/n. Vilagarcía de Arousa 36611. Galicia. Spain





CAPÍTULO 2. Estudio histopatológico de poblaciones de longueirón (*Ensis siliqua*) de Galicia

Este capítulo ha sido publicado en la revista:

Journal of Invertebrate Pathology 112(1):74-82. 2013

Autores: Ruiz M, Darriba S, Rodríguez R, López C



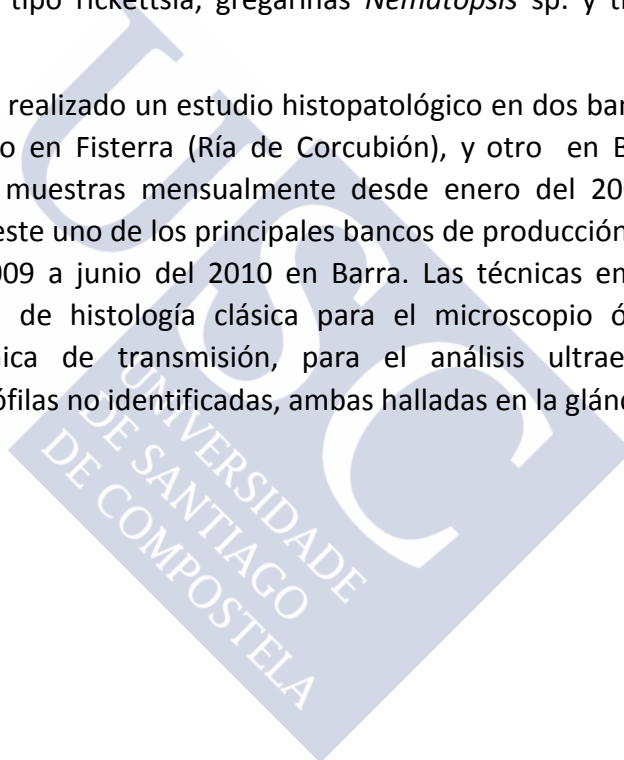
INTRODUCCIÓN

El longueirón, *Ensis siliqua*, es un molusco bivalvo infaunal que vive enterrado en la arena en el intermareal bajo e infralitoral.

Al igual que con la navaja (*Ensis magnus*) se han llevado a cabo, en Galicia, diferentes estudios para mejorar la gestión de la extracción, tanto en lo relacionado con el impacto de las artes de pesca (Catoira y Traba, 1997; Sebe y Guerra, 1997), con el ciclo reproductivo (Darriba et al., 2005b; Martínez-Patiño, 2002) y con las posibilidades de cultivo (da Costa et al., 2010).

Los estudios de patología de esta especie son escasos. Ceschia et al. (2001) cita la presencia de procariotas tipo rickettsia, gregarinas *Nematopsis* sp. y trematodos en esta misma especie.

En este capítulo se ha realizado un estudio histopatológico en dos bancos de longueirón, *Ensis siliqua*, uno ubicado en Fisterra (Ría de Corcubión), y otro en Barra (Ría de Vigo). Para ello, se recogieron muestras mensualmente desde enero del 2003 hasta junio del 2004 en Fisterra, siendo este uno de los principales bancos de producción de esta especie en Galicia, y de abril del 2009 a junio del 2010 en Barra. Las técnicas empleadas para este estudio fueron la técnica de histología clásica para el microscopio óptico y la técnica de microscopía electrónica de transmisión, para el análisis ultraestructural de dos tipos de inclusiones basófilas no identificadas, ambas halladas en la glándula digestiva.





ARTÍCULO 4. Histological survey of symbionts and other conditions of pod razor clam *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in Galicia (NW Spain)

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201112002418>



Histological survey of symbionts and other conditions of pod razor clam *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in Galicia (NW Spain)

Maite Ruiz^a, Susana Darriba^b, Rosana Rodríguez^a, Carmen López^{a,*}

^aCentro de Investigación Mariñas (CIMA), Consellería do Medio Rural e do Mar, Pedras de Corón, s/n, Apdo 13, Vilanova de Arousa, 36620 Galicia, Spain

^bInstituto Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR), Consellería do Medio Rural e do Mar, Peirao de Vilaxoán, s/n, Vilagarcía de Arousa, 36611 Galicia, Spain



CAPÍTULO 3. Estudio histopatológico de las poblaciones de longueirón vello (*Solen marginatus*) de Galicia y caracterización molecular de la nueva especie *Marteilia octospora* n. sp.

Este capítulo ha sido publicado en las revistas:

Diseases of Aquatic Organisms 112(3):177-184. 2015

Autores: Ruiz M, Darriba S, Rodríguez R, López C

Journal of Invertebrate Pathology 135 (Marzo 2016):34-42. 2016

Autores: Ruiz M, López C, Lee R-S, Rodríguez R, Darriba S



INTRODUCCIÓN

El longueirón vello, *Solen marginatus*, es la única especie autóctona del género *Solen* en Europa (Darriba y Fernández-Tajes, 2011). Esta especie presenta preferencia por sustratos de grano muy fino en zonas internas protegidas del oleaje y con salinidad medio-baja.

El número de estudios realizados en esta especie fue menor, debido a que entre los solénidos es la especie que menos se extrae en Galicia. Al igual que en las otras dos especies de solénidos se abordó el impacto de las artes de pesca (Sebe y Guerra, 1997), el ciclo reproductivo (Martínez-Patiño, 2002) y las posibilidades de su cultivo (da Costa, 2009). López y Darriba (2006) detectaron la presencia de una especie del género *Marteilia* en la glándula digestiva de ejemplares de un banco marisquero gallego, lo que motivó el interés por abordar un estudio amplio de la patología del longueirón vello en nuestras costas, así como la identificación de esta especie de *Marteilia*.

Las únicas publicaciones científicas sobre patología en *Solen marginatus* que se conocían, hasta el trabajo que aquí se presenta, eran la de López y Darriba (2006) y la de López-Flores et al. (2008) sobre la detección de *M. refringens* en Andalucía. En otras especies del mismo género, hay referencias de diferentes especies de ciliados en *Solen gracilis* (Xu et al., 1999) y *Solen grandis* (Xu et al., 2011) y de metacercarias de la especie *Acanthoparyphium tyosenense* (Digenea) en *Solen grandis* en la república de Corea (Chai et al., 2001).

En este capítulo se ha realizado un cartografiado de la presencia de *Marteilia* sp. en 17 bancos marisqueros distribuidos a lo largo de toda la costa gallega, entre los años 2008 y 2011. El estudio más relevante incluido en este capítulo es la caracterización e identificación de la especie de *Marteilia*, que infecta a *S. marginatus* en Galicia, como una nueva especie dentro del género y nombrada como *Marteilia octospora*.

En el siglo pasado, la identificación de especies del género *Marteilia* estuvo basada, principalmente, en criterios ultraestructurales y en la especificidad del parásito por un determinado hospedador. Actualmente, el desarrollo de técnicas moleculares ha facilitado el establecimiento de nuevos criterios taxonómicos. La secuenciación del gen 18S del ARN ribosómico (ARNr) ha resultado ser un buen indicador para situar a la especie *M. refringens* dentro del grupo Paramyxean (Berthe et al., 2000), aunque no tan útil para la discriminación entre especies del género por ser un gen bastante conservado. Para la diferenciación de especies se han revelado más adecuadas la secuenciación de la región espaciadora transcrita interna del ARNr (ITS-1) (Le Roux et al., 2001) y el análisis de secuencias del espaciador intergénico del ARNr (IGS) (López-Flores et al., 2004). Para la caracterización de esta nueva especie se emplearon técnicas de microscopía (óptica y electrónica) y técnicas moleculares. El empleo de improntas de glándula digestiva de longueirón vello infectado fue esencial en este trabajo para conocer el número de esporas por esporangio y compararlo con el de otras especies del género.



ARTÍCULO 5. *Marteilia* sp. and other parasites and pathological conditions in *Solen marginatus* populations along the Galician coast (NW Spain)

<http://www.int-res.com/abstracts/dao/v112/n3/p177-184/>

Vol. 112: 177–184, 2015 doi: 10.3354/dao02805	DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS Dis Aquat Org	Published January 15
--	--	----------------------

***Marteilia* sp. and other parasites and pathological conditions in *Solen marginatus* populations along the Galician coast (NW Spain)**

M. Ruiz¹, S. Darriba², R. Rodríguez³, C. López^{1,*}

¹Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), Pedras do Corón, PO Box 13, 36620, Vilanova de Arousa, Pontevedra, Spain

²Instituto Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR), Peirao de Vilaxoán s/n, 36611, Vilagarcía de Arousa, Pontevedra, Spain

³Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), Illa de Toralla, 36331, Vigo, Pontevedra, Spain





ARTÍCULO 6. A novel paramyxean parasite, *Marteilia octospora* n. sp. (Cercozoa) infecting the Grooved Razor Shell clam *Solen marginatus* from Galicia (NW Spain)

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002220111630012X>



A novel paramyxean parasite, *Marteilia octospora* n. sp. (Cercozoa) infecting the Grooved Razor Shell clam *Solen marginatus* from Galicia (NW Spain)



Maite Ruiz^a, Carmen López^a, Ren-Shiang Lee^c, Rosana Rodríguez^a, Susana Darriba^{b,*}

^a Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), Consellería do Mar, Xunta de Galicia, Pedras do Corón, P.O. Box 13, 36620 Vilanova de Arousa, Pontevedra, Spain

^b Instituto Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR), Consellería do Mar, Xunta de Galicia, Pórtico de Vilaxoán s/n, 36611 Vilagarcía de Arousa, Pontevedra, Spain

^c Departamento I+D+i, Consello Regulador do Mexillón de Galicia, Avenida da Mariña, 25, 36600 Vilagarcía de Arousa, Pontevedra, Spain





DISCUSIÓN GENERAL



El estudio histopatológico llevado a cabo en las distintas especies de solénidos de interés comercial en Galicia –*Ensis magnus* (= *Ensis arcuatus*), *Ensis siliqua* y *Solen marginatus*–, mostró la presencia de diferentes simbiontes, así como de condiciones anormales o alteraciones patológicas, no encontrándose ninguno de los agentes patógenos incluidos en la lista de enfermedades de declaración obligatoria de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), ni los recogidos por la legislación europea (Directiva 2006/88).

La presencia de **organismos simbiontes** en bivalvos, no tiene por qué afectar negativamente al hospedador, de hecho muchos de estos organismos simbiontes se consideran generalmente meros comensales, como es el caso de ciliados y turbelarios, salvo cuando su intensidad es muy alta. De los simbiontes detectados en esta tesis destacaron como potencialmente patogénicos las **fases larvarias de trematodos** digeneos en las 3 especies estudiadas y la ***Marteilia octospora*** en *S. marginatus*. Se podrían también considerar como riesgo patogénico los **quistes de organismos procariotas** detectados en la branquia de *S. marginatus* debido a las altas prevalencias detectadas en algunos bancos y la reacción hemocitaria generada en el hospedador.

Con respecto a las **fases larvarias de trematodos** digeneos, lo más destacable fueron los esporoquistes de la familia Bucephalidae (suborden Gasterostomata) invadiendo la gónada y otros órganos en *E. magnus* y *E. siliqua*. En Galicia, se han descrito esporocistes y cercarias de *Labratrema minimus* (Bucephalidae) en diferentes bancos de berberecho *Cerastoderma edule* (Iglesias et al., 2003), algunos próximos a zonas de explotación de navaja. En cuanto a los daños provocados en la navaja, se observó la ruptura de los tejidos invadidos, así como la castración de los ejemplares que presentaban alta intensidad de parasitación, esta es una consecuencia común en las infecciones causadas por esporoquistes en moluscos bivalvos (Boehs et al., 2010; Calvo-Ugarteburu y Mc Quaid, 1998; Coustau et al., 1993; Cheng, 1967; Heasman et al., 1996; Lasiak, 1991, 1993; Lauckner, 1983). A nivel poblacional, las prevalencias estimadas durante este trabajo fueron muy bajas, y la comparación estadística con datos previos indica que no parece que haya un incremento temporal en la prevalencia de los esporocistes de trematodos en las poblaciones de *E. magnus* analizadas. Otra fase larvaria de trematodos detectada en Solénidos fue la de metacercaria, destacando por su prevalencia las metacercarias enquistada en la glándula

pericárdica de *S. marginatus*. Altas cargas de metacercarias se han reportado en diferentes especies de moluscos bivalvos y entre los efectos provocados se describieron: alteración de las tasas de crecimiento, reducción de la habilidad de enterramiento y un incremento de la mortalidad (Bower, 2010b; Desclaux et al., 2002; Thieltges, 2006b). Metacercarias de las especies *Renicola roscovita* e *Himasthla* spp. se han identificado en la navaja americana *Ensis americanus* (= *directus*) en la región del Mar Muerto (Krakau et al., 2006), así como quistes de *Curtuteria* spp. en la glándula pericárdica de *S. marginatus* en Galicia (Rodríguez et al., 2009).

La presencia de ***Marteilia***, en diferentes bancos de *S. marginatus* a lo largo de la costa gallega, mostró que la distribución de este protozoo está principalmente focalizada en la Ría Arousa, donde fue detectada en varios bancos, registrándose casos aislados en la Ría de Ortigueira. *Marteilia* sp. en *S. marginatus* en Galicia fue detectada por López y Darriba (2006), poniendo en evidencia que podía ser una nueva especie. Posteriormente, *Marteilia refringens* fue descrita en *S. marginatus* en Andalucía (López-Flores et al., 2008). *M. refringens* fue también reportada en España con anterioridad en mejillón (*Mytilus galloprovincialis*), y más tarde en otras especies de bivalvos (revisado por Carrasco et al., 2015). Recientemente una nueva especie del género *Marteilia* (*M. conchillia*) fue descrita en el berberecho *C. edule* en Cataluña y Galicia, asociado en este caso con episodios de mortalidad que acarrearón importantes pérdidas económicas (Carrasco et al., 2011; Carrasco et al., 2013; Villalba et al., 2014). En esta tesis se confirma la presencia de una nueva especie del género *Marteilia* en *S. marginatus* en Galicia. La característica morfológica más relevante de esta nueva especie es el número de esporas por esporangio (8), siendo el número más alto de los reportados en este género, por lo que fue nombrada como ***Marteilia octospora***. Los análisis filogenéticos del estudio molecular mostraron mayor similitud con *M. conchillia* que con *M. refringens*. *M. octospora* parece mostrar una alta especificidad por el hospedador *S. marginatus* ya que el parásito ha sido detectado por primera vez en la Ría de Arousa en el año 2003 y desde este momento no ha sido detectado en otras especies de bivalvos que cohabitan en esa misma área de producción. Durante este estudio no se observó ningún patrón temporal de esta enfermedad, del mismo modo que en el caso de las poblaciones de mejillón de Galicia afectadas por *M. refringens* (Villalba et al., 1993c).

En relación a la presencia de organismos procariotas en solénidos, además de observarse colonias intracelulares tipo rickettsias en glándula digestiva en las tres especies, y en branquia en *E. siliqua* y *S. marginatus*, lo más destacable fueron unos **quistes de organismos procariotas** en branquia de *S. marginatus*. Las prevalencias más altas fueron las de las colonias procariotas intracelulares y los quistes en branquia en *S. marginatus*. El estudio ultraestructural confirmó que las características morfológicas de los organismos procariotas contenidos en dichas colonias y quistes eran similares, aunque la localización de los quistes parece extracelular, presentando una envoltura gruesa compuesta por material electro-denso y una pared exterior. Quistes extracelulares similares, presentando una envuelta que según Gulka y Chang (1984) podría ser producida por el hospedador como respuesta defensiva, se describieron en otros bivalvos (Carballal et al., 2001; Costa et al., 2012; Goggin y Lester, 1990; Gulka y Chang, 1984; Villalba et al., 1999),

Otros organismos simbioses que no destacaron por su potencial efecto patogénico, sino por su naturaleza vírica, fueron las inclusiones basófilas observadas en el interior de células epiteliales de la glándula digestiva de *E. magnus* y *E. siliqua*. Morfológicamente recordaron a las inclusiones intranucleares de origen viral de la gónada de las ostras *Crassostrea virginica* (Farley, 1976) y *Crassostrea gigas* (Cheslett et al., 2009; Choi et al., 2004; Garcia et al., 2006). El análisis ultraestructural confirmó que se trataba de virus, siendo esta la primera descripción de partículas virales en solénidos. El tamaño y la simetría de las partículas virales concuerdan con los virus descritos en la ostra *Crassostrea virginica* (Farley, 1976; McGladdery y Stephenson, 1994; Winstead y Courtney, 2003) y *C. gigas* (Cheslett et al., 2009; Choi et al., 2004; Garcia et al., 2006; Meyers et al., 2009) causantes de la patología conocida como hipertrofia gonadal viral (VGH). En base a su morfología, estos autores relacionan estos virus con los de las familias *Papillomaviridae* y *Polyomaviridae*.

Entre las **alteraciones patológicas**, no asociadas a la presencia de organismos simbioses, cabe destacar la presencia de neoplasia gonadal (germinoma) en *E. magnus* y *E. siliqua*; y neoplasia diseminada en *S. marginatus* y *E. siliqua*. Darriba et al. (2006) reportó el primer caso de **germinoma** en *E. magnus*, aunque con menor prevalencia que los resultados obtenidos en esta tesis en la misma especie. Esta patología según su extensión puede llegar

a producir la castración, y no se puede obviar su posible diseminación a otros órganos (metástasis), como fue descrito en algunos bivalvos (revisado por Barber, 2004; Ruiz y López, 2012).

La **neoplasia diseminada** es la enfermedad neoplásica más común en los invertebrados marinos y se ha descrito en al menos 23 especies diferentes de bivalvos marinos con una distribución geográfica ubicua (Barber, 2004; Carballal et al., 2015; Elston et al., 1992). La intensidad de infección de esta enfermedad en *S. marginatus* fue generalmente ligera en todos los bancos analizados. En Galicia, en ocasiones esta patología ha sido asociada con episodios de mortalidad en especies como la ostra *Ostrea edulis* (Alderman et al., 1977; da Silva et al., 2011), en almeja bicuda *Polititapes aureus* (= *Venerupis aurea*) (Iglesias et al., 2007) y en berberecho *C. edule* (Ordás y Figueras, 2005; Villalba et al., 2001). Estudios recientes han puesto de manifiesto, en algunos bivalvos, que las células neoplásicas tienen un genotipo diferente al de las células sanas de sus hospedadores y que además de transmitirse de ejemplares enfermos a ejemplares sanos pueden incluso transmitirse entre especies (Metzger et al., 2015; Metzger et al., 2016).

Cabe destacar que ninguna de las patologías mencionadas representa en la actualidad un riesgo para las poblaciones de solénidos de Galicia, aunque podrían llegar a causar efectos negativos si la prevalencia y la intensidad alcanzan valores elevados.

No obstante, los resultados obtenidos justifican la necesidad de establecer un plan de vigilancia zoonosanitario en algunos bancos con especial atención a aquellos agentes potencialmente patógenos que en la actualidad no suponen un riesgo para las poblaciones. Por otro lado, para evitar la entrada de nuevos agentes patógenos sería conveniente mantener los bancos de solénidos sin introducción de partidas procedentes de otras zonas.



CONCLUSIONES GENERALES



1. Las poblaciones de solénidos de la costa gallega son hospedadoras de colonias de organismos procariotas, diversas especies de protozoos y metazoos, así como de organismos de naturaleza vírica, siendo el grupo de los protozoos el más frecuente en las tres especies estudiadas (*Ensis magnus* (= *Ensis arcuatus*), *Ensis siliqua* y *Solen marginatus*).
2. En cuanto a alteraciones patológicas, se ha detectado un tipo de neoplasia gonadal (germinoma) en *E. magnus* y *E. siliqua* y neoplasia diseminada en *E. siliqua* y *S. marginatus*.
3. Ninguna de las patologías detectadas es de declaración obligatoria para la OIE y ninguna de ellas parece suponer, en la actualidad, un riesgo para las poblaciones de solénidos de Galicia; aunque podrían llegar a causar efectos negativos si la prevalencia y la intensidad alcanzan valores elevados.
4. Ha sido identificada una nueva especie de protozoo del género *Marteilia* en *S. marginatus*, cuya característica principal es la formación del número más elevado de esporas por esporangio conocido hasta el momento (8), por lo que se ha nombrado como *Marteilia octospora*.
5. Del estudio cartográfico de la presencia del protozoo *M. octospora* por toda la costa gallega, se concluyó que está focalizada principalmente en la Ría de Arousa, aunque se describieron casos aislados en la Ría de Ortigueira.
6. De entre los simbioses y las alteraciones patológicas detectados, los de mayor potencial patogénico serían los esporoquistes de la familia Bucephalidae y el germinoma en el caso de *E. magnus* y *E. siliqua* y *M. octospora*, la neoplasia diseminada y las metacercarias enquistadas en la glándula pericárdica en *S. marginatus*.
7. Las infecciones detectadas en la branquia de *S. marginatus* por quistes de organismos procariotas, en los 17 bancos analizados, alcanzando prevalencias muy elevadas en algunos de ellos, merece también una especial atención, a pesar de aparecer en intensidades no relevantes.
8. Como conclusión final, tras los resultados obtenidos en el marco de esta tesis, se considera necesario establecer una serie de **recomendaciones** para la sostenibilidad y gestión de estos recursos marisqueros:

- a. Mantener los bancos de solénidos sin introducción de partidas procedentes de otras zonas.
- b. Establecer un plan de vigilancia zoonosario de algunos bancos, poniendo énfasis en el seguimiento de patologías como los esporoquistes de trematodos digeneos y el germinoma en *E. magnus* y *E. siliqua*, así como las metacercarias enquistadas en la glándula pericárdica, la neoplasia diseminada y la *M. octospora* en *S. marginatus*.





BIBLIOGRAFÍA



- Abollo, E., Ramilo, A., Casas, S.M., Comesana, P., Cao, A., Carballal, M.J., Villalba, A., 2008. First detection of the protozoan parasite *Bonamia exitiosa* (Haplosporidia) infecting flat oyster *Ostrea edulis* grown in European waters. *Aquaculture*. 274, 201-207.
- Alderman, D.J., van Banning, P., Pérez-Colomer, A., 1977. Two european oyster (*Ostrea edulis*) mortalities associated with an abnormal haemocytic condition. *Aquaculture*. 10, 335-340.
- Alderman, D.J., 1979. Epizootiology of *Marteilia refringens* in Europe. *Marine Fisheries Review*. 41, 67-69.
- Alonso-González, A., Mariño Folla-Cisneros, J.A., 1994. Os longueiróns e as navallas: recursos emerxentes. *Marisqueo en Galicia. 3ª Xornadas de medio mariño e acuicultura*. Edicións do Castro, Sada, pp. 109-125.
- Alonso, A., Suárez, P., Alvarez, C., San Juan, F., Molist, P., 2001. Structural study of a possible neoplasia detected in *Mytilus galloprovincialis* collected from the Ría of Vigo (NW Spain). *Dis Aquat Org*. 47, 73-79.
- Arzul, I., Carnegie, R.B., 2015. New perspective on the haplosporidian parasites of molluscs. *J Invertebr Pathol*. 131, 32-42.
- Azevedo, C., 2001. Ultrastructural description of the spore maturation stages of the clam parasite *Minchinia tapetis* (Vilela, 1951) (Haplosporida : Haplosporidiidae). *Syst Parasitol*. 49, 189-194.
- Azevedo, C., Conchas, R.F., Montes, J., 2003. Description of *Haplosporidium edule* n. sp (Phylum Haplosporidia), a parasite of *Cerastoderma edule* (Mollusca, Bivalvia) with complex spore ornamentation. *Eur J Protistol*. 39, 161-167.
- Barber, B.J., 2004. Neoplastic disease of commercially important marine bivalves. *Aquat Living Resour*. 17, 449-466.
- Barry, M.N., Yevich, P.P., 1975. Part III. Histopathological studies. *Mar Pollut Bull*. 6, 171-173.
- Berthe, F.C.J., Le Roux, F., Peyretailade, E., Peyret, P., Rodriguez, D., Gouy, M., Vivares, C.P., 2000. Phylogenetic analysis of the small subunit ribosomal RNA of *Marteilia refringens* validates the existence of phylum paramyxea (Desportes and Perkins, 1990). *J Eukaryot Microbiol*. 47, 288-293.
- Bilei, S., Tiscar, P.G., Marsilio, F., Falchi, A., Palazzini, N., 1997. Indagine sulle patologie presenti in cannolicchi (*Ensis* sp.) raccolti lungo la costa laziale. *Bollettino Societa Italiana di Patologia Ittica*. 21, 20-25.
- Boehs, G., Villalba, A., Ceuta, L.O., Luz, J.R., 2010. Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira river (Ilheus, Bahia, Brazil). *J Invertebr Pathol*. 103, 43-47.
- Bower, S.M., McGladdery, S.E., Price, I.M., 1994a. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Sphenophrya-like Ciliates of Oysters.
- Bower, S.M., McGladdery, S.E., Price, I.M., 1994b. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Sphenophrya-like Ciliates of Clams and Cockles
- Bower, S.M., McGladdery, S.E., 2001. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Sphenophrya-like Ciliates of Mussels.
- Bower, S.M., 2002. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Parasitic Copepods on Oyster Gills.
- Bower, S.M., 2007. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Kidney Coccidia of Clams.
- Bower, S.M., McGladdery, S.E., 2009. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Gregarine Parasitism of Oysters.
- Bower, S.M., 2010a. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Brown Ring Disease of Manila Clams. <<http://www.dfo-mpo.gc.ca/science/aah-saa/diseases-maladies/brdcc-eng.html>>.

- Bower, S.M., 2010b. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. www.pac.dfo-mpo.gc.ca/science/species-especes/shellfish-coquillages/diseases-maladies/index-eng.htm.
- Bower, S.M., 2012. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: *Steinhausia* sp. (Cockle and Clam Egg Disease).
- Brousseau, D.J., Baglivo, J.A., 1991. Field and laboratory comparisons of mortality in normal and neoplastic *Mya arenaria*. J Invertebr Pathol. 57, 59-65.
- Brown, R.S., Wolke, R.E., Saila, S.B., Brown, C.W., 1977. Prevalence of neoplasia in ten New England population of the soft-shell clam (*Mya arenaria*). Ann N Y Acad Sci. 298, 522-534.
- Burreson, E.M., Ford, S.E., 2004. A review of recent information on the Haplosporidia, with special reference to *Haplosporidium nelsoni* (MSX disease) Aquat Living Resour. 17, 499-517.
- Calvo-Ugarteburu, G., Mc Quaid, C.D., 1998. Parasitism and invasive species: effects of digenetic trematodes on mussels. Mar Ecol Prog Ser. 169, 149-163.
- Cameron, A., 2002. Survey Toolbox for Aquatic Animal Diseases. A practical Manual and Software Package. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Carballal, M.J., Iglesias, D., Santamarina, J., Ferro-Soto, B., Villalba, A., 2001. Parasites and pathologic conditions of the cockle *Cerastoderma edule* populations of the coast of Galicia (NW Spain). J Invertebr Pathol. 78, 87-97.
- Carballal, M.J., Villalba, A., Iglesias, D., Hine, P.M., 2003. Virus-like particles associated with large foci of heavy hemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain). J Invertebr Pathol. 84, 234-237.
- Carballal, M.J., Diaz, S., Villalba, A., 2005. *Urosporidium* sp hyperparasite of the turbellarian *Paravortex cardii* in the cockle *Cerastoderma edule*. J Invertebr Pathol. 90, 104-107.
- Carballal, M.J., Barber, B.J., Iglesias, D., Villalba, A., 2015. Neoplastic diseases of marine bivalves. J Invertebr Pathol. 131, 83-106.
- Carnegie, R.B., Arzul, I., Bushek, D., 2016. Managing marine mollusc diseases in the context of regional and international commerce: policy issues and emerging concerns. Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences. 371.
- Carrasco, N., Roque, A., Andree, K.B., Rodgers, C., Lacuesta, B., Furones, M.D., 2011. A *Marteilia* parasite and digestive epithelial virosis lesions observed during a common edible cockle *Cerastoderma edule* mortality event in the Spanish Mediterranean coast. Aquaculture. 321, 197-202.
- Carrasco, N., Hine, P.M., Durfort, M., Andree, K.B., Malchus, N., Lacuesta, B., Gonzalez, M., Roque, A., Rodgers, C., Dolors Furones, M., 2013. *Marteilia cochillia* sp nov., a new *Marteilia* species affecting the edible cockle *Cerastoderma edule* in European waters. Aquaculture. 412, 223-230.
- Carrasco, N., Green, T., Itoh, N., 2015. *Marteilia* spp. parasites in bivalves: a revision of recent studies. J Invertebr Pathol.
- Casas, S.M., Villalba, A., Reece, K.S., 2002. Study of perkinsosis in the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). I. Identification of the aetiological agent and in vitro modulation of zoosporulation by temperature and salinity. Dis. Aquat. Org. 50, 51-65.
- Catoira, J.L., Traba, J.M., 1997. La Explotación del Longueirón de fondo, *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758), en Fisterra: métodos de captura y análisis económico. Xornadas técnicas sobre o desenvolvemento productivo do marisqueo a pé.
- Ceschia, G., Zanchetta, S., Sello, M., Montesi, F., Figueras, A., 2001. Presenza di parassiti in cannolichi (*Ensis minor* and *Ensis siliqua*) pescati nell'area costiera del Mar Tirreno meridionale e del Mar Adriatico. Bollettino Societa Italiana di Patologia Ittica. 13, 20-27.
- Conchas, R.F., Montes, J., Lopez, C., Darriba, S., Iglesias, D., 2004. Bucephalidae Trematode affecting razor clam *Ensis arcuatus* from the coast of Galicia (NW Spain). Multidisciplinary for Parasites, Vectors and Parasitic Diseases. 2, 505-509.

- Costa, P.M., Carreira, S., Lobo, J., Costa, M.H., 2012. Molecular detection of prokaryote and protozoan parasites in the commercial bivalve *Ruditapes decussatus* from southern Portugal. *Aquaculture*. 370-371, 61-67.
- Coustau, C., Robbins, I., Delay, B., Renaud, F., Mathieu, M., 1993. The parasitic castration of the mussel *Mytilus edulis* by the trematode parasite *Prosorhynchus squamatus*: Specificity and partial characterization of endogenous and parasite-induced anti-mitotic activities. *Comparative Biochemistry and Physiology. A: Physiology*. 104, 229-233.
- Cremonte, F., Kroeck, M.A., Martorelli, S.R., 2001. A new monorchiid cercaria (Digenea) parasitising the purple clam *Amiantis purpurata* (Bivalvia : Veneridae) in the Southwest Atlantic Ocean, with notes on its gonadal effect. *Folia Parasitol.* 48, 217-223.
- Cremonte, F., Balseiro, P., Figueras, A., 2005. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. *Dis Aquat Org.* 64, 85-90.
- Cremonte, F., 2011. Enfermedades de moluscos bivalvos de interés comercial causadas por metazoos. In: Figueras, A., Novoa, B. (Eds.), *Enfermedades de moluscos bivalvos de interés en acuicultura*, Madrid, pp. 333-396.
- Crespo, C., Rodriguez, H., Segade, P., Iglesias, R., Garcia-Estevez, J.M., 2009. *Coccomyxa* sp. (Chlorophyta: Chlorococcales), a new pathogen in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) of Vigo estuary (Galicia, NW Spain). *J Invertebr Pathol.* 102, 214-219.
- Chai, J.Y., Han, E.T., Park, Y.K., Guk, S.M., Lee, S.H., 2001. *Acanthoparyphium tyosenense*: The discovery of human infection and identification of its source. *J Parasitol.* 87, 794-800.
- Cheng, T.C., 1967. Marine mollusc as host for symbiosis with a review of known parasites of commercially important species. Academic Press Inc., London.
- Cheslett, D., McKiernan, F., Hickey, C., Collins, E., 2009. Viral gametocytic hypertrophy of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Ireland. *Dis Aquat Org.* 83, 181-185.
- Choi, D.L., Lee, N.-S., Choi, H.J., Park, M.-A., McGladdery, S.E., Park, M.S., 2004. Viral gametocytic hypertrophy caused by a papova-like virus infection in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Korea. *Dis Aquat Org.* 59, 205-209.
- da Costa, F., Darriba, S., Martínez-Patiño, D., 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia : Pharidae). *J Molluscan Stud.* 74, 103-109.
- da Costa, F., 2009. Optimización del cultivo en criadero de navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865), longueirón (*E. siliqua* Linneo, 1758) y longueirón vello (*Solen marginatus* Pennánt, 1777): composición bioquímica y de ácidos grasos en los desarrollos larvarios. Thesis Dissertation, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- da Costa, F., Martínez-Patiño, D., Ojea, J., Nóvoa, S., 2010. Larval rearing and spat production of the razor clam *Ensis siliqua* (Bivalvia; Pharidae). *J. Shellfish Res.* 74, 103-109.
- da Costa, F., Darriba, S., Martínez-Patiño, D., Guerra, A., 2011. Culture possibilities of the razor clam *Ensis arcuatus* (Pharidae: Bivalvia). *Aquacult. Res.* 42, 1549-1557.
- da Silva, P.M., Fuentes, J., Villalba, A., 2011. Disseminated neoplasia in flat oysters *Ostrea edulis* from Galicia (NW Spain): Occurrence, ultrastructural aspects and relationship with bonamiosis. *J. Invertebr. Pathol.* 107, 50-59.
- Darriba, S., 2001. Biología de la navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865) de la Ría de Vigo (NO de España). Crecimiento y reproducción. Thesis Dissertation, Universidad de Vigo, Vigo, Spain.
- Darriba, S., San Juan, F., Guerra, A., 2004. Reproductive cycle of the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in northwest Spain and its relation to environmental conditions. *J Exp Mar Biol Ecol.* 311, 101-115.
- Darriba, S., Juan, F.S., Guerra, A., 2005a. Energy storage and utilization in relation to the reproductive cycle in the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865). *ICES J Mar Sci.* 62, 886-896.
- Darriba, S., San Juan, F., Guerra, A., 2005b. Gametogenic cycle of *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in the Ría de Corcubión, Northwestern Spain. *J Molluscan Stud.* 71, 47-51.

- Darriba, S., Iglesias, D., Harshbarger, J.C., López, C., 2006. Germinoma in razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in Galicia (NW Spain). J Invertebr Pathol. 93, 140-142.
- Darriba, S., Ramilo, A., Abollo, E., Villalba, A., 2010. Detection of *Perkinsus olseni* infecting the cockle *Cerastoderma edule* in Galicia (NW Spain) Aquaculture Europe 2010, Porto, pp. 356-357.
- Darriba, S., Fernández-Tajes, J., 2011. Systematics and distribution. In: Guerra, A., Lodeiros, C., Baptista, M., da Costa, F. (Eds.), Razor clams: Biology, aquaculture and fisheries. Consellería do Mar, Xunta de Galicia, pp. 29-44.
- Darriba, S., Ruiz, M., Lopez, C., 2012. Phage particles infecting branchial Rickettsiales-like organisms in banded carpet shell *Polititapes virgineus* (Bivalvia) from Galicia (NW Spain). Dis Aquat Org. 100, 269-272.
- Darriba, S., 2016. Informe Epidemiológico de moluscos bivalvos de Galicia. Anualidad 2015. <http://www.intecmar.gal/PDFs/Patoloxia/Informe_Anual_2015.pdf>.
- Desclaux, C., de Montaudouin, X., Bachelet, G., 2002. Cockle emergence at the sediment surface: "favourization" mechanism by digenean parasites. Dis Aquat Org. 52, 137-149.
- Desser, S.S., Bower, S.M., 1997. *Margolisiella kabatai* gen. et sp.n. (Apicomplexa: Eimeriidae), a parasite of native littleneck clams, *Protothaca staminea*, from British Columbia, Canada, with a taxonomic revision of the coccidian parasites of bivalves (Mollusca: Bivalvia). Folia Parasitologica. 44, 241-247.
- Di, Y., Schroeder, D.C., Highfield, A., Readman, J.W., Jha, A.N., 2011. Tissue-specific expression of p53 and ras genes in response to the environmental genotoxicant benzo(α)pyrene in marine mussels. Environmental Science and Technology. 45, 8974-8981.
- Diaz, S., Iglesias, D., Villalba, A., Carballal, M.J., 2016. Long-term epidemiological study of disseminated neoplasia of cockles in Galicia (NW Spain): temporal patterns at individual and population levels, influence of environmental and cockle-based factors and lethality. J. Fish Dis. 39, 1027-1042.
- Elston, R., Moore, J.D., Brooks, K.M., 1992. Disseminated neoplasia of bivalve molluscs. Rev Aquat Sci. 6, 405-466.
- Elston, R., 1997. Special topic review: Bivalve mollusc viruses. World J Microbiol Biotechnol. 13.
- Elston, R.A., Kent, M.L., Drum, S.A., 1988. Progression, lethality and remission of hemic neoplasia in the bay mussel, *Mytilus edulis*. Dis Aquat Org. 4, 135-142.
- Fahy, E., Alcantara, M.L., Norman, M., Browne, R., Roantree, V., Pfeiffer, N., 2002. Mortalities of *Ensis arcuatus* (Jeffreys) (Solenacea) in Western Ireland. J Shellfish Res. 1, 29-32.
- Farley, C.A., 1969. Probable neoplastic disease of hematopoietic system in oysters, *Crassostrea virginica* and *Crassostrea gigas*. National Cancer Institute Monographs. 31, 541-555.
- Farley, C.A., Foster, W.S., Banfield, W.G., Kasnic, G., 1972. Oyster herpes-type virus. Science. 178, 759-760.
- Farley, C.A., 1976. Ultrastructural observations on epizootic neoplasia and lytic virus infection in bivalve mollusks. Progress in Experimental Tumor Research. 20, 283-294.
- Figueras, A., 2011. Enfermedades de moluscos bivalvos de interés en acuicultura. Fundación Observatorio Español de Acuicultura, Madrid.
- Figueras, A.J., Jardon, C.F., Caldas, J.R., 1991. Diseases and parasites of rafted mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) preliminary results. Aquaculture. 99, 17-33.
- Garcia, C., Robert, M., Arzul, I., Chollet, B., Joly, J.P., Miossec, L., Comtet, T., Berthe, F., 2006. Viral gametocytic hypertrophy of *Crassostrea gigas* in France: from occasional records to disease emergence? Dis Aquat Org. 70, 193-199.
- Gardner, G.R., Yevich, P.P., Hurst, J., Thayer, P., Benyi, S., Harshbarger, J.C., J., P.R., 1991. Germinomas and teratoid siphon anomalies in softshell clams, *Mya arenaria*, environmentally exposed to herbicides. Environ Health Perspect. 90, 43-51.
- Goggin, C.L., Lester, R.J.G., 1990. Rickettsiales-like infection in the gills of *Tridacna crocea* from the Great Barrier Reef J Invertebr Pathol. 56, 135-138.

- Grizel, H., Comps, M., Bonami, J.R., Cousserans, F., Duthoit, J.L., Pennec, M., 1974. Recherche sur la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* Linne. Bull. Inst. Pêches Marit. 240, 7-30.
- Guerra, A., 2013. Navajas y longueirones, un recurso marisquero sostenible, preparado para la acuicultura. http://www.ipacuicultura.com/noticias/divulgacion/28753/navajas_y_longueirones_un_recurso_marisquero_sostenible_preparado_para_la_acuicultura.html.
- Gulka, G., Chang, P.W., 1984. Host response to rickettsial infection in blue mussel, *Mytilus edulis* L. J. Fish Dis 8, 319-323.
- Harshbarger, J.C., Otto, S.V., Chang, S.C., 1979. Proliferative disorders in *Crassostrea virginica* and *Mya arenaria* from the Chesapeake Bay and intranuclear virus-like inclusions in *Mya arenaria* with germinomas from a Maine oil spill site. Haliotis. 8, 243-248.
- Heasman, M.P., O'Connor, W.A., Frazer, A.W.J., 1996. Digenean (Bucephalidae) infections in commercial scallops, *Pecten fumatus* Reeve, and doughboy scallops, *Chlamys (Mimachlamys) asperrima* (Lamarck) in Jervis Bay, New South Wales. J Fish Dis. 19, 333-339.
- Hernández-Otero, A., Gaspar, M.B., Macho, G., Vázquez, E., 2014a. Age and growth of the sword razor clam *Ensis arcuatus* in the Ria de Pontevedra (NW Spain): Influence of environmental parameters. J. Sea Res. 85, 59-72.
- Hernández-Otero, A., Martínez-Castro, C., Vázquez, E., Macho, G., 2014b. Reproductive cycle of *Ensis magnus* in the Ria de Pontevedra (NW Spain): Spatial variability and fisheries management implications. J. Sea Res. 91, 45-57.
- Hesselman, D.M., Blake, N.J., E.C., P., 1988. Gonadal neoplasm in hard shell clams *Mercenaria spp.*, from the Indian River, Florida: Occurrence, Prevalence, and Histopathology. J Invertebr Pathol. 52, 436-446.
- Iglesias, D., Carballal, M.J., Villalba, A., 2003. Digenean parasites of the cockle *Cerastoderma edule* populations from Galicia (NW Spain) natural beds. Proceedings of the 11th EAFP International Conference, Malta, p. 125.
- Iglesias, D., 2006. Estudio patológico de las poblaciones de berberecho *Cerastoderma edule* (L.) de Galicia. Thesis Dissertation, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain.
- Iglesias, D., Carballal, M.J., Villalba, A., 2007. An epizootic proliferative disorder detected in a natural population of the clam, *Venerupis aurea* in Galicia (NW Spain). Proceedings of the 13th EAFP International Conference, Grado, p. 231.
- Iglesias, D., Rodriguez, L., Gomez, L., Azevedo, C., Montes, J., 2012. Histological survey of Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Galicia (NW Spain). J. Invertebr. Pathol. 111, 244-251.
- Jonsson, R., Andre, C., 1992. Mass mortality of the bivalve *Cerastoderma edule* on the Swedish west coast caused by infestation with the digenean trematode *Cercaria cerastodermæ*. Ophelia. 36, 151-157.
- Krakau, M., Thielges, D.W., Reise, K., 2006. Native parasites adopt introduced bivalves of the North Sea. Biol Invasions. 8, 919-925.
- Kristmundsson, A., Helgason, S., Bambir, S.H., Eydal, M., Freeman, M.A., 2011a. Previously unknown apicomplexan species infecting Iceland scallop, *Chlamys islandica* (Muller, 1776), queen scallop, *Aequipecten opercularis* L., and king scallop, *Pecten maximus* L. J Invertebr Pathol. 108, 147-155.
- Kristmundsson, A., Helgason, S., Bambir, S.H., Eydal, M., Freeman, M.A., 2011b. *Margolisiella islandica* sp nov (Apicomplexa: Eimeridae) infecting Iceland scallop *Chlamys islandica* (Muller, 1776) in Icelandic waters. J Invertebr Pathol. 108, 139-146.
- Lasiak, T.A., 1991. Bucephalid trematode infections in mytilid bivalves from the rocky intertidal of Southern Chile. J Molluscan Stud. 58, 29-36.

- Lasiak, T.A., 1993. Bucephalid trematode infections in the brown mussel *Perna perna* (Bivalvia, Mytilidae). South African Journal of Marine Science-Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Seewetenskap. 13, 127-134.
- Lauckner, G., 1983. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. (Ed.), Diseases of marine animals. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, pp. 477-961.
- Lauckner, G., 1987. Effects of parasites on juvenile Wadden Sea invertebrates. Proceedings of the 5th International Wadden Sea Symposium, Esbjerg, pp. 103-121.
- Le Roux, F., Lorenzo, G., Peyret, P., Audemard, C., Figueras, A., Vivares, C., Gouy, M., Berthe, F., 2001. Molecular evidence for the existence of two species of *Marteilia* in Europe. J Eukaryot Microbiol. 48, 449-454.
- Lee, S.H., Chai, J.Y., Hong, S.T., 1993. *Gymnophalloides seoi* n. sp. (Digenea, Gymnophallidae), the first report of human infection by a gymnophallid. J. Parasitol. 79, 677-680.
- Lee, S.H., Sohn, W.M., Hong, S.J., Huh, S., Seo, M., Choi, M.H., Chai, J.Y., 1996. A nationwide survey of naturally produced oysters for infection with *Gymnophalloides seoi* metacercariae. The Korean journal of parasitology. 34, 107-12.
- Leibovitz, L., Schott, E.F., Karney, R.C., 1984. Diseases of wild, captive and cultured scallops. J World Aquacult Soc. 14, 269-283.
- López-Flores, I., De La Herrán, R., Garrido-Ramos, M.A., Navas, J.I., Ruiz-Rejón, C., Ruiz-Rejón, M., 2004. The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiation between *Marteilia* strains infecting oysters and mussels based on the rDNA IGS sequence. Parasitology. 129, 411-419.
- López-Flores, I., Garrido-Ramos, M.A., de la Herrán, R., Ruiz-Rejón, C., Ruiz-Rejón, M., Navas, J.I., 2008. Identification of *Marteilia refringens* infecting the razor clam *Solen marginatus* by PCR and in situ hybridization. Mol Cell Probes. 22, 151-155.
- López, C., Darriba, S., Miranda, M., Álvarez, C., 2005. Depuración de la navaja *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) y el longueirón *Ensis siliqua* (L., 1758) (Solenacea). Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 21, 311-315.
- López, C., Darriba, S., 2006. Presence of *Marteilia* sp. (Paramyxia) in the razor clam *Solen marginatus* (Pennant, 1777) in Galicia (NW Spain). J Invertebr Pathol. 92, 109-111.
- López, C., Darriba, S., Navas, J.I., 2012. Chapter 5. Clam symbionts. In: da Costa, F. (Ed.), Clam Fisheries and Aquaculture. Nova Publishers, New York, pp. 107-148.
- Martínez-Patiño, D., 2002. Estudio de los Solénidos, *Solen marginatus* (Pennant, 1777) y *Ensis siliqua* (Linné, 1758), de los bancos naturales de la Ría de Ortigueira y Ría del Barquero: ciclo gametogénico, composición bioquímica y cultivo larvario. Thesis Dissertation, Universidad de Santiago de Compostela,
- McGladdery, S.E., Stephenson, M.F., 1994. A viral infection of the gonads of eastern oyster (*Crassostrea virginica*) from Atlantic Canada. Bull Aquac Assoc Can. 94, 84-86.
- Metzger, M.J., Reinisch, C., Sherry, J., Goff, S.P., 2015. Horizontal Transmission of Clonal Cancer Cells Causes Leukemia in Soft-Shell Clams. Cell. 161, 255-263.
- Metzger, M.J., Villalba, A., Carballal, M.J., Iglesias, D., Sherry, J., Reinisch, C., Muttray, A.F., Baldwin, S.A., Goff, S.P., 2016. Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species. Nature. 534, 705-+.
- Meyers, T.R., Burton, T., Evans, W., Starkey, N., 2009. Detection of viruses and virus-like particles in four species of wild and farmed bivalve molluscs in Alaska, USA, from 1987 to 2009. Dis Aquat Org. 88, 1-12.
- Montes, J.F., Durfort, M., Garcia-Valero, J., 2001. Parasitism by the protozoan *Perkinsus atlanticus* favours the development of opportunistic infections. Dis Aquat Org. 46, 57-66.
- Morado, J.F., Sparks, A.K., Reed, S.K., 1984. A coccidian infection of the kidney of the native littleneck clam, *Protothaca staminea*. J Invertebr Pathol. 43, 207-217.

- Moss, J.A., Xiao, J., Dungan, C.F., Reece, K.S., 2008. Description of *Perkinsus beihaiensis* n sp, a new *Perkinsus* sp. parasite in oysters of southern China. J Eukaryot Microbiol. 55, 117-130.
- Nakayama, K., Nishijima, M., Maruyama, T., 1998. Parasitism by a protozoan in the hemolymph of the giant clam, *Tridacna crocea*. J Invertebr Pathol. 71, 193-198.
- Navas, J.I., 2008. Principales patologías de la almeja fina, *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758), del litoral onubense con especial referencia a la parasitosis por *Perkinsus olseni* Lester y Davis, 1981: diagnóstico, transmisión y efecto sobre la almeja. Thesis Dissertation, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain.
- Novoa, B., Figueras, A., 2000. Virus-like particles associated with mortalities of the carpet-shell clam *Ruditapes decussatus*. Dis. Aquat. Org. 39, 147-149.
- Ordás, M.C., Figueras, A., 2005. Histopathological study of abnormal mortalities of cockle (*Cerastoderma edule*) in Carril (Galicia, NW Spain). Bull Eur Assoc Fish Pathol. 25, 124-130.
- Orellana, E., Lohrmann, K.B., 2015. Histopathological assessment of broodstock of the razor clam *Ensis macha* (Pharidae) from the Tongoy Bay, Chile. J Shellfish Res. 34, 367-372.
- Organización Mundial de Sanidad Animal, 2016. Enfermedades, infecciones e infestaciones de la Lista de la OIE en vigor en 2016. <<http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/oie-listed-diseases-2016/>>.
- Paillard, C., 2004. A short-review of brown ring disease, a vibriosis affecting clams, *Ruditapes philippinarum* and *Ruditapes decussatus*. Aquat Living Resour. 17, 467-475.
- Pascual, S., Villalba, A., Abollo, E., Garci, M., Gonzalez, A.F., Nombela, M., Posada, D., Guerra, A., 2010. The mussel *Xenostrobus securis*: a well-established alien invader in the Ria de Vigo (Spain, NE Atlantic). Biol Invasions. 12, 2091-2103.
- Pauley, G.B., 1969. A critical review of neoplasias and tumor-like lesions in mollusks. Natl. Cancer I. Monogr. 31, 509-529.
- Peters, E.C., 1988. Recent investigations on the disseminated sarcomas of marine bivalve molluscs. Am Fish Soc Spec Publ. 18, 74-92.
- Peters, E.C., Yevich, P.P., Harshbarger, J.C., Zaroogian, G.E., 1994. Comparative histopathology of gonadal neoplasm in marine bivalve molluscs. Dis Aquat Org. 20, 59-76.
- Plataforma Tecnológica da Pesca, 2015. Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia. <<http://www.pescadegalicia.com/>>.
- Ramilo, A., Iglesias, D., Abollo, E., Gonzalez, M., Darriba, S., Villalba, A., 2014. Infection of Manila clams *Ruditapes philippinarum* from Galicia (NW Spain) with a *Mikrocytos*-like parasite. Dis Aquat Org. 110, 71-79.
- Ramilo, A., Pintado, J., Villalba, A., Abollo, E., 2016. *Perkinsus olseni* and *P. chesapeakei* detected in a survey of perkinsosis of various clam species in Galicia (NW Spain) using PCR-DGGE as a screening tool. J. Invertebr. Pathol. 133, 50-58.
- Renault, T., Novoa, B., 2004. Viruses infecting bivalve molluscs. Aquat Living Resour. 17, 397-409.
- Robledo, J.A.F., Caceres Martinez, J., Sluys, R., Figueras, A., 1994a. The parasitic turbellarian *Urastoma cyprinae* (Plathyhelminthes, Urastomidae) from blue mussel *Mytilus galloprovincialis* in Spain. Occurrence and Pathology. Dis. Aquat. Org. 18, 203-210.
- Robledo, J.A.F., Santarem, M.M., Figueras, A., 1994b. Parasite loads of rafted blue mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Spain with special reference to the copepod, *Mytilicola intestinalis*. Aquaculture. 127, 287-302.
- Robledo, J.A.F., Nunes, P.A., Cancela, M.L., Vasta, G.R., 2002. Development of an in vitro clonal culture and characterization of the rRNA gene cluster of *Perkinsus atlanticus*, a protistan parasite of the clam *Tapes decussatus*. J. Eukaryot. Microbiol. 49, 414-422.
- Rodríguez, R., Iglesias, D., Ruiz, M., López, C., 2009. Digenean trematodes affecting razor clam *Solen marginatus* populations from Galicia (NW Spain) natural beds. Proceedings of the 14th EAFP International Conference, Prague, p. 191.

- Romalde, J.L., Vilariño, M.L., Beaz, R., Rodríguez, J.M., Díaz, S., Villalba, A., Carballal, M.J., 2007. Evidence of retroviral etiology for disseminated neoplasia in cockles (*Cerastoderma edule*). *J Invertebr Pathol.* 94, 95-101.
- Ruiz, M., López, C., 2012. Chapter 6. Neoplasias. In: da Costa, F. (Ed.), *Clam Fisheries and Aquaculture*. Nova Publishers, New York, pp. 149-162.
- Ruiz, Y., Suarez, P., Alonso, A., Longo, E., Villaverde, A., San Juan, F., 2011. Environmental quality of mussel farms in the Vigo estuary: pollution by PAHs, origin and effects on reproduction. *Environ. Pollut.* 159, 250-265.
- Ruiz, Y., Suárez, P., Alonso, A., Longo, E., San Juan, F., 2013. Mutagenicity test using *Vibrio harveyi* in the assessment of water quality from mussel farms. *Water Res.* 47, 2742-2756.
- Sebe, M.P., Guerra, A., 1997. Análise das artes dedicadas á extracción de solénidos (navalla, longueirón e longueirón vello). Xornadas técnicas sobre o desenvolvemento productivo do marisqueo a pé.
- Sindermann, C.J., 1990. Part III. Non infectious diseases of shellfish. In: Sindermann, C.J. (Ed.), *Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish*. Academic Press, San Diego.
- Soto, M., Pascual, S., Rodríguez, H., Gestal, C., Abollo, E., Arias, C., Estévez, J., 1996. *Nematopsis* spp. Schneider, 1892 (Apicomplexa: Gregarinida) in bivalve molluscs off Ria de Vigo (Galicia, NW Spain). *Bull Eur Assoc Fish Pathol.* 16, 157-160.
- Sparks, A.K., 1985. *Synopsis of Invertebrate Pathology Exclusive of Insects*. Elsevier, Amsterdam.
- Thieltges, D.W., 2006a. Parasite induced summer mortality in the cockle *Cerastoderma edule* by the trematode *Gymnophallus choledochus*. *Hydrobiologia.* 559, 455-461.
- Thieltges, D.W., 2006b. Effect of infection by the metacercarial trematode *Renicola roscovita* on growth in intertidal blue mussel *Mytilus edulis*. *Mar Ecol Prog Ser.* 319, 129-134.
- Van Beneden, R.J., Rhodes, L.D., Gardner, G.R., 1997. Studies of the molecular basis of gonadal tumors in the marine bivalve, *Mya arenaria*. 9th International Symposium on Responses of Marine Organisms to Pollutants (PRIMO 9), Bergen, Norway, pp. 209-213.
- Vazquez, N., Perez Bruno, E., Marquez, F., Van der Molen, S., Gilardoni, C., Cremonte, F., 2013. A histopathological survey of the razor clam *Ensis macha* (Pharidae) along the Patagonian Argentina coast. *J Invertebr Pathol.* 112, 253-259.
- Villalba, A., López, C., Carballal, M.J., 1993a. Parásitos y alteraciones patológicas de tres especies de almeja, *Ruditapes decussatus*, *Venerupis pullastra*, y *Venerupis rhomboides*, en las Rías gallegas. IV Congreso Nacional de Acuicultura, Illa de Arousa, pp. 551-556.
- Villalba, A., Mourelle, S.G., Carballal, M.J., López, M.C., 1993b. Effects of infection by the protistan parasite *Marteilia refringens* on the reproduction of cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* in Galicia (NW Spain). *Dis Aquat Org.* 17, 205-213.
- Villalba, A., Mourelle, S.G., Lopez, M.C., Carballal, M.J., Azevedo, C., 1993c. Marteiliasis affecting cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* of Galicia (NW Spain). 1. Etiology, phases of the infection, and temporal and spatial variability in prevalence. *Dis Aquat Org.* 16, 61-72.
- Villalba, A., Mourelle, S.G., Carballal, M.J., Lopez, C., 1997. Symbionts and diseases of farmed mussels *Mytilus galloprovincialis* throughout the culture process in the Rias of Galicia (NW Spain). *Dis Aquat Org.* 31, 127-139.
- Villalba, A., Carballal, M.J., López, C., Cabada, A., Corral, L., Azevedo, C., 1999. Branchial rickettsia-like infection associated with clam *Venerupis rhomboides* mortality. *Dis Aquat Org.* 36, 53-60.
- Villalba, A., Carballal, M.J., Lopez, C., 2001. Disseminated neoplasia and large foci indicating heavy haemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain). *Dis Aquat Org.* 46, 213-216.
- Villalba, A., Reece, K.S., Ordás, M.C., Casas, S.M., Figueras, A., 2004. Perkinsosis in molluscs: A review. *Aquat Living Resour.* 17, 411-432.

- Villalba, A., Iglesias, D., Ramilo, A., Darriba, S., Parada, J.M., No, E., Abollo, E., Molares, J., Carballal, M.J., 2014. Cockle *Cerastoderma edule* fishery collapse in the Ria de Arousa (Galicia, NW Spain) associated with the protistan parasite *Marteilia cochillia*. *Dis Aquat Org.* 109, 55-80.
- Wegeberg, A.M., Jensen, K.T., 2003. In situ growth of juvenile cockles, *Cerastoderma edule*, experimentally infected with larval trematodes (*Himasthla interrupta*). *J Sea Res.* 50, 37-43.
- Winstead, J.T., Courtney, L.A., 2003. Ovacystis-like condition in the eastern oyster *Crassostrea virginica* from the northeastern Gulf of Mexico. *Dis Aquat Org.* 53, 89-90.
- Xu, K., Lei, Y., Al-Rasheid, K.A.S., Song, W., 2011. Two new ectoparasitic ciliates, *Sphenophrya solinis* sp. nov. and *Planeticoverticella paradoxa* sp. nov. (Protozoa: Ciliophora), from marine molluscs. *J Mar Biol Assoc U K.* 91, 265-274.
- Xu, K.D., Song, W.B., Warren, A., 1999. Thrichodinic ectoparasites (Ciliophora: Peritrichia) from the gills of mariculture molluscs in China, with the descriptions of four new species of *Trichodina* Ehrenberg, 1838. *Syst Parasitol.* 42, 229-237.
- Yevich, P.P., Barszcz, C.A., 1976. Gonadal and hematopoietic neoplasia en *Mya arenaria*. *Marine Fisheries Review.* 38, 42-43.
- Yevich, P.P., Barszcz, C.A., 1977. Neoplasia in soft-shell clams (*Mya arenaria*) collected from oil-impacted areas. *Ann N Y Acad Sci.* 298, 409-426.







